UNIVERSITÉ D'ALGER

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE D'ALGER

ANNÉE 1952. — N° 60

Etude de l'Immunité dans le Paludisme Expérimental du Rat Blanc

(Travail du Laboratoire de Bactériologie
de la Faculté de Médecine d'Alger : Professeur G. FABIANI)

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 4 Novembre 1952

PAR

FULCHIRON Georges

Né le 19 Septembre 1916 à Saint-Etienne (Loire)

Licencié ès Lettres

Titulaire du Certificat d'Études Supérieures de Chimie Générale

Assistant Délégué de Bactériologie à la Faculté de Médecine d'Alger

MEMBRES DU JURY :

MM. FABIANI, Professeur de Bactériologie ..... *Président*

De RIBET, Professeur d'Anatomie.....

KEHL, Professeur d'Histologie et Embryologie .... } *Juges*

MANDOUL, Professeur de Parasitologie et Zoologie Médicale...

ALGER

Imp. LA TYPO-LITHO & JULES CARBONEL Réunies

2, Rue de Normandie, 2

1952

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542703_0011

UNIVERSITÉ D'ALGER

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE D'ALGER

ANNÉE 1952. — N° 60

Etude de l'Immunité dans le Paludisme Expérimental du Rat Blanc

(Travail du Laboratoire de Bactériologie
de la Faculté de Médecine d'Alger : Professeur G. FABIANI)

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 4 Novembre 1952

PAR

FULCHIRON Georges

Né le 19 Septembre 1916 à Saint-Etienne (Loire)

Licencié ès Lettres
Titulaire du Certificat d'Études Supérieures de Chimie Générale
Assistant Délégué de Bactériologie à la Faculté de Médecine d'Alger

MEMBRES DU JURY :

MM. FABIANI, Professeur de Bactériologie ..... *Président*
De RIBET, Professeur d'Anatomie.....
KEHL, Professeur d'Histologie et Embryologie ..... *Juges*
MANDOUL, Professeur de Parasitologie et Zoologie Médicale...

ALGER
Imp. LA TYPO-LITHO & JULES CARBONEL Réunies
2, Rue de Normandie, 2

UNIVERSITÉ D'ALGER

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE D'ALGER

Doyen	MM. SARROUY (O. ✻, ⛹, ⚗, A. ⚕).
Doyens honoraires	LEBLANC (✻, ⚗, I. ⚕).
	LAFFONT (C. ✻, ⚗, I. ⚕, O.S.).
	LEBON (C. ✻, ⚗, I. ⚕).
Assesseur	ROQUES (I. ⚕).

PROFESSEURS

Clinique médicale	MM. AUBRY (O. ✻, ⚗, I. ⚕).
Clinique des maladies infectieuses	BENHAMOU (C. ✻, ⚗, I. ⚕).
Histologie et Embryologie	KEHL (I. ⚕).
Chimie biologique et médicale	GIBERTON (✻, I. ⚕).
Matière médicale	FOURMENT (✻, I. ⚕, M. A.).
Clinique obstétricale et gynécologique	LAFFONT (C. ✻, ⚗, I. ⚕, O.S.).
Clinique thérapeutique médicale	LEBON (C. ✻, ⚗, I. ⚕).
Physiologie	MALMEJAC (✻, I. ⚕).
Anatomie pathologique et oncologie humaine et comparée	MONTPELLIER (✻, I. ⚕).
Physique médicale	PORTES (O. ✻, ⚗, I. ⚕).
Clinique de dermato-syphiligraphie	HADIDA (⚗, A. ⚕).
Anatomie	RIBET (de) (✻, ⚗, I. ⚕).
Clinique médicale et hygiène infantile	SARROUY (O. ✻, ⛹, ⚗, A. ⚕)
Clinique ophtalmologique et ophtalmologie intertropicale	TOULANT (O. ✻, ⚗, I. ⚕).
Chimie générale pharmaceutique	GRANGAUD (A. ⚕).
Clinique chirurgicale	DUBOUCHER (✻, I. ⚕).
Thérapeutique chirurgicale	GOINARD (I. ⚕).
Hygiène, Hydrologie et Climatologie	LACROIX (✻, ⚗, I. ⚕).
Pathologie générale et médicale	RAYNAUD R. (⚗).
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	LOMBARD (✻, ⚗, I. ⚕).
Pharmacie chimique et toxicologie	MONNET (I. ⚕).
Clinique neuro-psychiatrique	MANCEAUX (✻, ⚗).
Parasitologie et zoologie médicale	MANDOUL (A. ⚕).
Médecine légale et médecine de travail	THIODET (✻, ⚗, I. ⚕).
Bactériologie	FABIANI (A. ⚕).
Clinique urologique	SABADINI (⚗, I. ⚕).
Botanique	ROQUES (I. ⚕).
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	GIRAUD (✻).
Clinique de phtisiologie	LEVI-VALENSI (✻, ⚗).
Pathologie chirurgicale	N...
Accouchement et Obstétricie sociale	HOUEL (O. ✻, ⚗, I. ⚕).

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. BENOIT (✻, ⚗, I. ⚕).	MM. ABOULKER (✻, ⚗, I. ⚕).
CABANES (✻, ⚗, I. ⚕).	POROT (I. ⚕).
COURRIER (O. ✻, ⚗, I. ⚕).	RAYNAUD M. (✻, ⚗, I. ⚕).
GILLOT (I. ⚕).	WEBER (I. ⚕).
LEBLANC (✻, ⚗, I. ⚕).	

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. JAHIER (I. ⚕), Agrégé.
M. CHECHAN (I. ⚕), Maître de conférences, Agrégé

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Physiologie	MM. CHARDON.
Pharmacie	COLLET.

AGREGES

Accouchement	MM. N...
Médecine	BOULARD.
	FABREGOULE.
Pédiatrie	COMBE.
Chirurgie	N...
	LIARAS (A. ⚕).
	VERGOZ (✻, ⚗, A. ⚕).
Anatomie	BOURGEON (⚗, A. ⚕).
Histologie et Embryologie	N...
Chimie médicale	N..
Anatomie pathologique	LAFARGUE (A. ⚕).
Médecine légale	MICHAUX.
Histoire naturelle pharmaceutique	N...
Oto-rhino-laryngologie	N...
Dermato-syphiligraphie	N...
Bactériologie	N..
Chimie générale pharmaceutique	N...
Neuro-psychiatrie	SUTTER (✻, ⚗).
Ophtalmologie	LARMANDE.
Odonto-stomatologie	PERI (✻, A. ⚕).

AGREGE LIBRE

Physiologie	M. BATTEZ.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et selon la tradition d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

A Monsieur le Professeur G. FABIANI

Professeur de Bactériologie -- Médecin des Hôpitaux

A qui cette thèse doit tout. Pour la formation qu'il m'a donnée, au cours des trois années passées dans son laboratoire, pour la bienveillance et la sollicitude qu'il n'a cessé de me témoigner, qu'il reçoive ici l'expression de mes sentiments d'attachement et de très vive gratitude.

A MES MAITRES ET JUGES

A Monsieur le Professeur R. M. de RIBET

Pour tout l'intérêt qu'il a manifesté à mon égard et l'aide qu'il m'a apportée durant mes études, en hommage reconnaissant et respectueux.

A Monsieur le Professeur J. LEBON

En témoignage de reconnaissance pour m'avoir réservé un si large accueil dans son service de médecine générale.

A Messieurs les Professeurs KEHL et MANDOUL

En respectueux hommages.

A Monsieur le Docteur E. GRUNY

AUX MEMBRES DU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE :

Monsieur le Docteur R. VARGUES ; Madame A. VERAIN ;
Mesdemoiselles J. CLAUSSE, M. A. IZZO et J. ORFILA ;
Monsieur S. HADJERES.

En amical hommage.

PLAN

Introduction

Première partie

Chapitre I. — Vue d'ensemble sur l'attaque de première infection du Rat blanc par *P. berghei*.

Chapitre II. — Historique des recherches sur l'immunité dans le paludisme du Rat.

Chapitre III. — Techniques d'étude du Paludisme expérimental du Rat.

Deuxième partie

Chapitre I. — Les faits fondamentaux de l'immunité chez le Rat blanc : guérison, absence de rechutes spontanées, résistance aux réinoculations, disparition spontanée de l'infection latente.

Chapitre II. — Les facteurs de l'immunité.

§ 1. Immunité naturelle.

§ 2. Facteurs agissant sur l'immunité acquise :
rate,
surrénales (surrénalectomie et cortisone),
autres facteurs.

Chapitre III. — Caractères généraux de l'immunité : durée de l'immunité, immunité croisée, immunité congénitale, immunité post-thérapeutique, essai de vaccination, rapports entre la durée de l'immunité et la survie du parasite.

Chapitre IV. — Mécanisme de l'immunité.

§ 1. Facteurs humoraux (séro-protection).

§ 2. Facteurs cellulaires (test péritonéal).

Troisième partie

Discussions et commentaires

Chapitre I. — Les caractères généraux de l'immunité dans les divers paludismes.

Chapitre II. — Discussions sur l'immunité dans le paludisme à *P. berghei*.

Conclusions

INTRODUCTION

Le Rat blanc, qui a reçu une injection de sang parasité par *Plasmodium berghei*, présente une maladie aiguë, qui consiste essentiellement en une infection sanguine importante ayant une évolution brève ; elle se termine par la mort dans la moitié des cas ou par une guérison rapide. Les premiers travaux qui ont suivi la découverte de cet hématozoaire par Vincke et Lips en 1948 chez des Rongeurs sauvages du Congo belge, ont montré aussi que le Rat spontanément guéri est devenu résistant aux réinoculations bien qu'il présente une infection latente ; cette infection latente est susceptible de réveil par splénectomie.

On retrouvait là des caractères communs aux divers paludismes humains, simiens, aviaires.

L'étude expérimentale de cette maladie du Rat est facile : elle ne nécessite pas un trop grand équipement et peut être poursuivie sur un grand nombre d'animaux. Ce qui nous a incité à rechercher, grâce à elle, la solution de problèmes de pathologie générale ou d'immunologie que pose le paludisme humain et qui ne peuvent être toujours abordés aisément chez les Singes (d'expérimentation plus difficile), ni chez les Oiseaux (différents des Mammifères à plus d'un point de vue).

Nous avons ainsi pu préciser les caractères de cette immunité ; il a fallu pour cela mettre au point des techniques précises pour mesurer cette résistance acquise et en analyser les facteurs. Nous avons étudié longuement le rôle de la rate, avons recherché l'explication de la plus ou moins grande réceptivité des animaux et essayé d'en analyser le mécanisme.

Et ainsi nous avons retrouvé chez le Rat tel caractère, tel phénomène immunitaire déjà observé dans le paludisme, soit des singes, soit d'oiseaux, soit de l'Homme. Et nous avons été amenés à aborder la plupart des problèmes d'immunologie générale que posent les infections palustres.

Bien qu'il ne s'agisse que de *paludisme expérimental*, c'est-à-dire produit par injection de trophozoïtes, et non pas de l'infection naturelle par sporozoïtes, — donc se rapprochant du paludisme humain d'inoculation et différant, par l'absence de formes exo-

érythrocytaires, du paludisme naturel transmis par le moustique, — les expériences sont riches d'enseignements, apportent déjà quelques conclusions intéressantes et incitent à poursuivre ces études.

*
**

Nous rapportons dans cette thèse les recherches entreprises sur ce sujet depuis deux ans au Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine d'Alger. Elles ont été menées sous la direction de M. le Professeur Fabiani, avec la collaboration de R. Vargues et P. Grellet, de Mme A. Verain et de Mlles J. Clausse et M. A. Izzo. L'expérimentation a porté sur 700 rats, soumis à des expérimentations diverses : chez ceux dont nous avons laissé évoluer la primo-infection, 265 ont guéri et sur eux ont pu être étudiés les phénomènes d'immunité acquise.

Certains de ces résultats ont été présentés dans des notes préliminaires à l'Académie des Sciences ou à la Société de Biologie, ou bien sont rapportés dans la thèse de P. Grellet et dans des mémoires publiés dans le Bulletin de la Société de Pathologie exotique ou dans les Annales de l'Institut Pasteur.

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Vue d'ensemble sur l'attaque de première infection du Rat blanc par *P. berghei*

Nos recherches ont été poursuivies sur le Rat blanc de laboratoire : *Rattus norvegicus*, variété *albus*.

Nous avons employé trois souches de *Plasmodium berghei* (Vincke et Lips, 1948) ; nous sommes redevables de deux d'entre elles à l'obligeance du Pr Dubois et du Dr Schneider ; la troisième est une souche que nous avons rendue paludrino-résistante.

Il convient de préciser qu'il ne s'agit pas du « paludisme naturel » produit par pénétration de sporozoïtes (habituellement par piqûres de moustique), mais d'un *paludisme expérimental* provoqué par l'injection de trophozoïtes. On pourrait encore l'appeler « paludisme d'inoculation » ou « paludisme artificiel » au sens où l'entendent les paludologues contemporains comme Mark F. Boyd et S. F. Kitchen.

Le Rat est facilement infecté par *injection de sang virulent* dans la cavité intrapéritonéale.

La maladie présente une *évolution cyclique*. A la période prépatente succède la période patente, caractérisée par la présence décelable au microscope d'une parasitémie, puis survient soit la mort, soit la guérison clinique avec disparition des hématozoaires du courant sanguin. La parasitémie est le signe majeur, et d'ailleurs le seul constant, de cette évolution infectieuse ; c'est son intensité et sa durée qui distinguent les principales formes de la maladie.

Nous employons le terme de *période prépatente* pour désigner avec James, d'après W. H. Taliaferro, la période initiale de l'infection pendant laquelle les parasites ne sont pas décelables au microscope dans le sang ; ce qui correspond à la définition de S. F. Kitchen (in Boyd's *Malariology*) : « intervalle s'écoulant « depuis l'inoculation jusqu'à la première détection de parasites « dans des frottis épais de sang périphérique » ; elle représente, dans le cas du paludisme d'inoculation, « la période requise pour « que les trophozoïtes atteignent une densité qui permette de « les déceler dans les frottis épais ». D'une durée de quelques jours, lorsqu'on a injecté dans la séreuse péritonéale un nombre d'hématies parasitées compris entre quelques centaines et quelques millions, ce laps de temps se réduit à quelques heures ou à quelques minutes si l'on a recours à des quantités initiales de plusieurs centaines de millions ; il fait même défaut si l'on injecte directement dans les cavités cardiaques ce grand nombre d'hématozoaires : la maladie commence alors directement par la période d'état. Cette période prépatente est donc différente d'une *incubation*.

La *période patente* commence quand les hématozoaires sont visibles sur des frottis de sang. On constate une augmentation progressive, rapide et régulière du nombre des parasites jusqu'à un maximum : il peut y avoir alors 50-70 p. 100 de globules rouges parasités. L'infection se termine alors rapidement, soit par la mort de l'animal, soit par la guérison : le nombre des hématozoaires décroît très rapidement.

D'après les données de l'examen microscopique des frottis et les résultats de la détermination du degré de la parasitémie, on peut schématiquement diviser la période patente en 4 stades : de début (Stade I), d'état (Stade II), critique (Stade III), de déclin (Stade IV).

Le stade de début correspond à l'apparition des *Plasmodium* dans le sang. Il dure deux à trois jours. Les hématozoaires sont peu nombreux. Les globules rouges parasités sont des hématies de taille normale, acidophiles ; elles contiennent un seul parasite. Les hématozoaires présentent tous les aspects, du trophozoïte jeune au schizonte : cette intrication des cycles se poursuivra pendant le cours de la maladie, rendant très difficile la détermination exacte de la durée de la schizogonie.

Le stade d'état est caractérisé par l'augmentation progressive, régulière et rapide, du nombre des globules rouges parasités et aussi par l'aspect du frottis sanguin qui est tout à fait caractéristique. Les hématies parasitées sont en très grande

majorité, et souvent exclusivement, des hématies polychromatophiles présentant un diamètre très supérieur à celui des hématies normales, diamètre qui atteint 10 à 12 μ. Ces polychromatophiles contiennent toujours plusieurs hématozoaires : ce sont des trophozoïtes à des étapes diverses de leur développement, des schizontes et quelques rosaces à 18-30 mérozoïtes. Vers le milieu de ce stade, parfois un peu plus tôt, apparaissent quelques « formes de souffrance », identiques au « crisis forms » plasmodiales que Taliaferro a décrites dans l'infection des singes panaméens par *P. brasilianum* : les hématozoaires n'ont plus leur aspect normal (coloration uniforme et franche du protoplasme avec limites précises), mais présentent un protoplasme dont les contours s'estompent et qui se distingue mal du stroma globulaire, comme s'il y avait lyse endoglobulaire des parasites ; certains hématozoaires ne sont plus représentés que par leur chromatine entourée d'une auréole claire et de quelques taches bleues plus foncées, vestiges du protoplasme qui disparaît.

Au stade critique, l'infection sanguine est à son maximum. Les hématies polychromatophiles sont très nombreuses dans le sang et même prédominantes : toujours de grande taille, elles sont, pour la plupart, parasitées par plusieurs plasmodies. On remarque aussi plusieurs faits nouveaux : les formes de souffrance sont devenues nombreuses, les rosaces ne contiennent plus que quelques mérozoïtes (6-12), il y a des hématies polychromatophiles qui ne renferment pas de parasites, enfin quelques globules rouges acidophiles de petite taille sont parasités mais ne contiennent qu'un seul hématozoaire. Cette « crise » ne dure pas longtemps et l'on est assuré, à la vue d'un tel aspect du sang, que l'évolution va se précipiter ; deux jours plus tard, ou l'animal sera mort ou bien il y aura une chute importante du nombre des parasites et apparaîtra le stade IV.

Au stade de déclin, la parasitémie diminue rapidement et en 2 jours, ou tout au plus en 4 ou 5, il n'y a plus de globules rouges parasités dans le sang. On observe de très nombreuses hématies polychromatophiles et seules quelques-unes d'entre elles, de jour en jour plus rares, renferment des hématozoaires, le plus souvent se présentant sous l'aspect de formes de souffrance. Par contre, des parasites toujours uniques se développent dans des globules rouges de plus petite taille, c'est-à-dire de diamètre normal ou légèrement supérieur à la normale ; ce monoparasitisme se produit dans des globules rouges acidophiles ou « intermédiaires », ayant une teinte légèrement violacée ou grisâtre. Très vite il ne persiste plus que le monoparasitisme

des hématies de taille normale, faisant contraste avec les nombreuses hématies polychromatophiles volumineuses dépourvues d'hématozoaires. Et la guérison clinique survient : la parasitémie a cessé, on ne distingue plus au microscope de globules rouges parasités dans le sang ; pendant quelques jours on observe encore de nombreuses hématies polychromatophiles, puis les différences de teinte et de taille s'atténuent et le sang reprend son aspect normal en une semaine ; mais de temps en temps un hématozoaire est décelé dans le sang, parasite unique d'un globule rouge acidophile.

Au cours des infections légères — celles où le taux de globules rouges parasités ne dépasse guère 10 p. 100 — le passage d'un stade à l'autre se produit de façon moins tranchée [34].

CHAPITRE II

Historique des recherches sur l'immunité dans le paludisme du Rat

Quand au Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine d'Alger ont été entrepris des recherches sur *Plasmodium berghei*, diverses publications avaient déjà fait mention de quelques phénomènes d'immunité dans le paludisme des Rats : il s'agissait de travaux sur des Rats sauvages chez lesquels, en 1948, Vincke et Lips avaient découvert ce nouvel hématozoaire (*Thamnomys surdaster*), puis sur le *Rattus rattus*, le Cotton Rat et enfin sur le Rat blanc (*Rattus norvegicus albus*).

Voici les principaux faits signalés :

1. Guérison de l'infection aiguë.

Tout d'abord était signalée l'existence d'une guérison, après primo-infection, dans un pourcentage important de cas, ce qui contrastait avec l'évolution constamment mortelle de l'infection chez la Souris blanche. Vincke et Van den Bulcke, avec *Rattus rattus*, observent 100 guérisons sur 200 animaux inoculés [99]. Rhodain, en inoculant deux Cotton Rat, obtient une parasitémie faible durant deux à trois jours [60]. Edm. Sergent et Mme A. Poncet, rapportant leurs observations sur 5 rats blancs qui servaient de témoins à des études sur le Mérion, signalent à ce propos : « l'infection expérimentale des rats blancs ressemble à celle des souris blanches, mais l'accès parasitaire aigu n'est pas toujours fatal et fait place, assez souvent, à un stade d'infection latente métacritique, comme celle dont I. H. Vincke et M. A. Van den Bulcke ont reconnu l'existence fréquente chez *Rattus rattus* ». En effet, ces 5 rats, suivis pendant un mois à partir du jour de l'inoculation, montrent une disparition microscopique définitive du *Plasmodium* de la circulation, res-

pectivement les 18e, 21e, 22e, 24e et 30e jours [71]. C. Levaditi et A. Vaisman notent la stérilité microscopique du sang après accès [54].

Influence de l'âge et du poids sur la guérison. — H. Galliard et J. Lapierre inoculent 12 rats blancs et constatent sur un lot de 4 rats de 50 grammes et au-dessous « une sensibilité particulière à l'infection et une mortalité de 50 % », sur un lot de 4 rats de 120 grammes un seul décès, sur un lot de 4 rats de 250 grammes quatre survies [46].

Influence de la splénectomie avant impaludation. — Rhodain, impaludant 3 Cotton Rat préalablement splénectomisés, observe une évolution mortelle chez ces 3 animaux [60]. H. Galliard et J. Lapierre rapportent leurs expériences sur 3 rats de 50 à 60 grammes et 4 rats de 100 à 120 grammes, qui ont été splénectomisés avant de recevoir un inoculat infectant ; à la suite de trois décès avec forte parasitémie dans le premier lot, « il apparaît que chez les « jeunes rats de 50 grammes, la splénectomie suivie d'une infection est toujours mortelle » ; dans le deuxième lot « 3 rats sont morts au 20e jour, alors que l'infection commençait à décroître », « le quatrième rat a guéri après une infection de 27 jours... mais finalement est mort le 52e jour » : « chez les rats de 100 à 120 grammes, le décès, quand il survient, ne semble pas dépendre de l'infection postérieure à la splénectomie » [46].

2. Absence de rechute spontanée.

Vincke et Van den Bulcke, à propos de *Thamnomys surdaster surdaster*, écrivent : « Parmi les rats observés suffisamment longtemps, on en remarque un certain nombre qui ont atteint un degré d'infection très élevé, et par la suite ont encore présenté d'une façon intermittente des degrés moindres d'infection. D'autres ont présenté, toujours par intermittences, des degrés faibles d'infection » [100].

A. Corradetti n'observe aucune rechute parasitémique microscopiquement décelable chez 24 rats blancs suivis quotidiennement de 28 à 205 jours après la fin de l'attaque primaire. Chez quatre de ces animaux, on a seulement décelé une ou deux fois un parasite [18].

Mais, au moins pendant une certaine période, peut persister un pouvoir infectant du sang. C. Levaditi et Vaisman expérimentent sur 2 rats blancs. Dans le sang du premier rat, il y

a disparition des *Plasmodium* le 19e jour, puis « stérilité microscopique apparente » ; cependant 18 jours plus tard le sang est encore virulent pour la souris. Le deuxième animal, qui n'a présenté qu'une infection très faible, est sacrifié le 45e jour qui suit l'inoculation ; « recherche du virus dans le sang, le cerveau, le foie et la rate, par transferts à des souris. Résultats positifs pour l'ensemble des organes examinés » [54].

3. Résistance aux réinoculations.

a) *Réinoculation avec une souche homologue :*

Huit *Rattus rattus* sont réinoculés, par Vincke et Van den Bulck, avec des doses massives de sang ou d'organes, 13 à 14 jours après la guérison : certains ont par la suite été réinoculés une ou deux fois. Il n'y eut pas de rechute parasitémique.

A. Corradetti réinocule 11 rats blancs guéris de leur attaque primaire depuis 67 à 205 jours ; le sang de 7 rats est resté négatif (et est demeuré tel chez l'un de ces animaux soumis à une seconde réinoculation) : les 4 autres rats n'ont eu qu'une parasitémie très faible pendant 3 à 5 jours [18].

Raffaële et Baldi signalent qu'une tentative de réinoculation à 90 jours de la primo-infection a échoué [58].

b) *Réinoculation avec une souche hétérologue :*

Vincke et Van den Bulke expérimentent sur 12 *Rattus rattus*. La primo-inoculation remontait de 69 à 372 jours ; l'inoculation était faite avec une souche de *P. berghei* différente de celle ayant servi à la primo-inoculation. On observe trois rechutes, dont deux légères et une sévère, mortelle. Les mêmes auteurs réinoculent 13 *Rattus rattus* avec du sang ou des broyats d'organes de Souris; le temps écoulé depuis l'inoculation première variait de 136 à 432 jours ; il y eut douze reprises de la parasitémie (deux infections sévères et mortelles ; sept infections légères de 1 à 10 parasites par champ pendant 5-6 jours ; trois très faibles parasitémies à moins de 1 parasite par champ) [99].

4. Effet de la splénectomie après guérison.

Rhodain splénectomise 2 Cotton Rat 8 et 26 jours après disparition des parasites ; chez l'un de ces animaux l'infection reparaît après 4 jours, devient intense après 10 jours et la mort survient 17 jours après la splénectomie, alors qu'il y a de nombreux parasites dans le sang ; l'autre animal présente après

12 jours une parasitémie qui persistera, en restant faible, pendant 4 mois [60].

H. Galliard et J. Lapierre écrivent : « ... nous avons splénectomisé des rats de poids très différents (90 à 240 grammes), guéris depuis des intervalles de temps variant entre 5 et 20 jours... Dans tous les cas, la rechute parasitémique s'est produite 4 à 5 jours après la splénectomie. Le nombre maximum des parasites a été chaque fois le même que celui de la primo-infection. La guérison apparente s'est produite 23 à 25 jours après la splénectomie... L'infection est donc restée bénigne. Ainsi la splénectomie provoque un réveil de l'infection, qui présente les mêmes caractères que la primo-infection chez le rat normal. La résistance acquise au cours de la primo-infection permet une évolution moins grave que chez le rat inoculé après splénectomie ». [45].

A. Corradetti splénectomise 10 rats blancs dont la primo-infection était terminée depuis 28 à 122 jours ; pas de rechute. Trois autres animaux sont splénectomisés après un temps qui va de 79 à 111 jours: pas de rechute en 21-23 jours; on les réinocule alors : réapparition de la parasitémie chez tous les trois (un rat demeure positif jusqu'à sa mort, le 220e jour après la réinoculation ; un autre reste positif pendant 4 semaines puis se négative ; le troisième, suivi pendant 255 jours, est positif presque constamment pendant tout ce laps de temps) [18].

5. Infection latente.

Ces observations que nous venons de rapporter montrent, pendant un certain temps après guérison de l'accès palustre aigu, la persistance de l'infection sous forme latente (« infection latente métacritique » de Edm. et Et. Sergent). C'est cette infection latente, en effet, qui est décelée par la réapparition de quelques rares hématozoaires constatée parfois au microscope, par le pouvoir infectant du sang à l'égard de la Souris, par le réveil de la parasitémie après splénectomie.

CHAPITRE III

Techniques d'étude du paludisme expérimental du Rat

Nous indiquerons ici les différentes techniques que nous avons employées pour étudier l'immunité. Il s'agit soit de techniques classiques en paludologie expérimentale que nous avons adoptées en les modifiant s'il y a lieu, soit de techniques d'hématologie ou de microbiologie générale que nous avons appliquées au paludisme.

Nous pouvons grouper ces techniques sous quatre rubriques: inoculation, observation de la maladie, mise en évidence de l'immunité et de ses degrés, mise en évidence d'une infection latente.

1. Techniques d'inoculation.

Pour inoculer un animal neuf, on se sert d'injection de sang virulent, celui-ci étant recueilli sur eau citratée iso-tonique à 2 p. 100.

En raison de l'inefficacité de la voie intramusculaire et sous-cutanée que nous avons constatée chez 22 animaux, l'inoculation infectante se fait par voie intra-péritonéale ou intra-cardiaque ; cette dernière cependant, à cause de sa plus grande difficulté de réalisation, n'est employée que rarement. Les autres voies d'introduction de l'hématozoaire ne sont pas utilisées en pratique (voie cérébrale, oculaire, intradermique) [28].

L'inoculat peut contenir des quantités faibles ou fortes de plasmodies ; pour obtenir sûrement l'infection, il vaut mieux toutefois ne pas injecter une quantité de globules rouges parasités inférieure à 10.000 (8 p. 100 d'échecs de 2.000 à 1.000 ; 15 p. 100 d'échecs de 200 à 100) [49]. Il nous paraît utile, pour avoir des résultats précis et comparables, d'injecter des *quantités connues* de globules rouges parasités.

2. Techniques d'observation de la maladie.

Pour suivre l'évolution de la maladie, on ne peut guère recourir à l'examen clinique de l'animal, à la courbe de poids ou de température ; le seul signe constant est la constatation d'hématies parasitées dans le sang. Ces dernières peuvent être mises en évidence par deux procédés : examen microscopique, inoculation du sang étudié à une souris ou à un rat neufs.

a) *Examen microscopique du sang.* — La lecture du frottis sanguin permet d'établir le pourcentage d'hématozoaires ou de globules rouges parasités pour 100. La numération, à l'hématimètre de Malassez, du nombre d'hématies par millimètre cube permet de déduire le chiffre absolu par millimètre cube des GRP présents dans le sang. La critique que nous avons faite ailleurs de ces méthodes [29] montre que la numération des parasites par millimètre cube, méthode *a priori* la plus sûre, est en fait difficile et sujette à de nombreuses causes d'erreurs ; en pratique, la recherche du pourcentage des globules rouges parasités donne aisément un reflet fidèle de l'importance de la parasitémie.

b) *Inoculation à un animal neuf :* Rat et surtout *Souris.* Cette technique n'est utile que lorsque la parasitémie est très faible, trop peu importante pour être décelée à l'examen d'un frottis de sang ; seul alors le passage à l'animal réceptif révèle la présence d'hématozoaire.

3. Techniques d'exploration de l'immunité.

Les techniques que nous avons employées sont les suivantes:

a) *Coloration et numération des réticulocytes.* — Les réticulocytes, ou hématies à substance granulo-réticulo-filamenteuse, sont mis en évidence par coloration vitale avec le bleu crésyl brillant. C'est le procédé classique que nous avons modifié pour conserver les préparations et obtenir sur la même lame la coloration simultanée des hématies granulo-filamenteuses et des plasmodies. Pour cette coloration combinée, nous utilisons la technique suivante : une goutte de sang est mélangée sur lame avec une goutte d'eau citratée à 2 p. 100 additionnée de bleu crésyl brillant ; après une minute, étalement et dessication du frottis ; puis fixation et coloration avec les colorants de May Grundwald et Giemsa. Cette lame permet de savoir la proportion d'hématozoaires respectivement présents dans les réticulocytes et dans les globules rouges mûrs, et le pourcentage de

réticulocytes pour 100 hématies. Le calcul du nombre absolu des réticulocytes se fait aisément à partir du nombre absolu des globules rouges par mm^3. compté à la cellule de Malassez.

Rappelons que les hématies polychromatophiles, mises en évidence par fixation à l'alcool et coloration panoptique, sont aussi des hématies jeunes mais que la substance basophile est diffuse dans tout le stroma globulaire et lui donne une teinte plus ou moins violacée, tandis que les colorations vitales ou post-vitales montrent cette substance sous l'aspect réticulo-filamenteux ; les hématies polychromatophiles sont donc des réticulocytes, mais un certain nombre de globules rouges jeunes ne contiennent que trop peu de substance basophile pour apparaître polychromatophiles sur un frottis coloré au Giemsa, tandis que seule la coloration vitale les révélant comme réticulocytes montre qu'il s'agit d'hématies immatures. Il est donc préférable pour étudier le taux de ces hématies et leur parasitisme, d'étudier la réticulocytose sanguine plutôt que de se contenter d'apprécier la polychromatophilie.

b) *Réinoculation avec des quantités connues et massives de globules rouges parasités.* — On emploie des quantités de sang contenant 300 millions ou plus de globules rouges parasités pour un animal de 120 grammes et au-dessus ; chez le petit rat de 50 grammes, une dose de 30 millions de globules rouges parasités est suffisante. Le sang de l'animal donneur dont la parasitémie est connue et assez forte (au moins 10 p. 100 de préférence) est prélevé par ponction cardiaque et recueilli dans un volume égal d'eau citratée à 2 p. 100. Une numération à l'hématimètre de Malassez permet de déterminer la quantité de globules rouges parasités contenue dans un centimètre cube de ce mélange sang-eau citratée. Ce dernier est injecté, en quantité voulue, dans la cavité péritonéale ou dans les cavités cardiaques.

Si l'inoculat est introduit dans le péritoine, c'est à partir de la troisième heure que l'on peut déceler en quantités suffisantes sur le frottis l'apparition de globules rouges parasités dans le sang périphérique ; mais on peut parfois les mettre en évidence une demi-heure ou une heure après l'injection. En cas de recours à la voie intracardiaque, les parasites sont visibles dès les premières minutes.

Comme G. Fabiani et R. Vargues l'ont montré [31] lorsque le sang infestant provient d'un animal au stade II ou III, les hématozoaires se trouvent dans de grosses hématies à protoplasme bleu violet et sont plusieurs par hématies ; il est facile alors, lorsqu'elles apparaissent dans le sang du rat receveur, de

les distinguer des globules rouges du receveur qui sont de taille normale et de teinte rosée par coloration au Giemsa.

Il est à noter que l'inoculation intracardiaque est assez délicate : dans un nombre de cas relativement fréquent, il y a constitution d'un hémopéricarde mortel. L'injection intrapéritonéale au contraire n'offre aucune difficulté ni inconvénient, aussi est-elle employée comme une technique de routine.

Le passage plus ou moins important dans la circulation générale des hématies parasitées introduites dans le péritoine, la multiplication des parasites, la durée et le taux de cette parasitémie permettent d'apprécier le degré plus ou moins grand d'immunité acquise.

c) *Test de séro-protection.* — Il consiste à tester le pouvoir protecteur du sérum d'un animal immun (c'est-à-dire guéri de primo-infection paludéenne) ou hyperimmun (dont l'immunité a été renforcée par de nouvelles réinoculations d'hématozoaires après guérison). Dans ce but, on injecte le sérum dans la cavité péritonéale d'un animal neuf que l'on impalude une heure plus tard par injection intrapéritonéale de globules rouges parasités et dont on suit l'évolution de la parasitémie par des examens sanguins quotidiens ou biquotidiens. Nous verrons plus loin que la technique qui nous a donné les meilleurs résultats consiste à employer de petits rats de 50 grammes, à injecter le sérum que l'on veut éprouver à la dose de 1 cc. (il est difficile d'obtenir des quantités plus grandes sans risquer de tuer le rat par saignée) et à injecter une heure plus tard 30 millions de globules rouges parasités.

d) *Test péritonéal.* — Pour étudier le destin des globules rouges parasités introduits dans la séreuse péritonéale et la réaction cellulaire provoquée par cette inoculation, nous avons eu recours à la technique suivante : injecter dans la cavité péritonéale du sang citraté contenant une quantité importante d'hématozotaires ; à des intervalles de temps variables, ponctionner la cavité péritonéale au moyen d'une aiguille de 8/10 à biseau court en aspirant avec une seringue (pour cette opération, il est préférable de maintenir l'animal en position ventrale) ; retirer ainsi une quantité de sérosité suffisante pour faire un étalement sur lame, qui est coloré au May-Grünwald Giemsa. Après 24 heures, l'aspiration par la seringue ne ramenant plus de liquide, faire une laparatomie médiane, sous anesthésie à l'éther, et aspirer à la pipette Pasteur une quantité suffisante de sérosité pour exécuter un frottis.

4. Techniques pour déceler l'infection latente.

a) *Splénectomie,* ou mieux splénectomie suivie de *surrénalectomie*, ce qui favorise un réveil microscopiquement décelable de la parasitémie.

b) *Inoculation de sang* à des animaux neufs (rat ou souris). Nous en avons déjà parlé plus haut.

c) *Inoculation,* à des souris, *de broyats d'organes* (foie, rate, cerveau, etc.) de l'animal sacrifié.

Abréviations utilisées

S	animal sacrifié.
0	mort naturelle.
IP	inoculation intrapéritonéale.
IPM	inoculation intrapéritonéale massive, c'est-à-dire réalisée avec un inoculat contenant plusieurs centaines de millions de globules rouges parasités.
ICM	inoculation intracardiaque massive.
splén.	splénectomie ou splénectomisé.
surr.	surrénalectomie ou surrénalectomisé.
P	*Plasmodium*.
GRP	globule rouge parasité.
Rét.	réticulocyte.
GR	globule rouge.
+	parasitémie très faible, inférieure à un globule rouge parasité pour 1.000 globules rouges.
Bart.	bartonelle.

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Les faits fondamentaux de l'immunité chez le Rat blanc

L'immunité chez le Rat blanc se manifeste par quatre grands ordres de faits : l'animal guérit, il ne présente pas de rechutes spontanées, il résiste aux réinoculations, enfin l'infection latente disparaît.

I. — La guérison.

Après un certain nombre de jours d'évolution, la parasitémie atteint son maximum et nous arrivons à la période de crise, que nous avons décrite sous le nom de stade III. Alors surviennent un certain nombre de phénomènes nouveaux ; ils traduisent les modifications qui se produisent dans l'organisme du rat et qui constituent des moyens de défense nouveaux et spécifiques contre l'hématozoaire. Ils sont plus aisément observables dans les cas où la parasitémie a atteint un niveau assez élevé, au-dessus de 10 p. 100 : mais on les constate aussi lorsque la parasitémie a été faible. Ces phénomènes sont au nombre de trois : chute très rapide du taux de la parasitémie, apparition de formes de souffrance, diminution du nombre des mérozoïtes par rosace.

a) *Chute rapide du taux de la parasitémie. La « crise ».*

Dans les formes curables, quand le maximum de la parasitémie a été atteint, les hématozoaires présents dans le sang diminuent le plus souvent de façon brusque ou très rapide, et la guérison survient en 2 à 4 jours, quelquefois moins, rarement plus. C'est une guérison « clinique », c'est-à-dire une disparition de l'infection sanguine qui survient après une véritable « crise » parasitémique. Le caractère de rapidité de cette guérison n'est manifeste que chez les animaux où la parasitémie a atteint un taux très élevé ; mais dans le cas d'infection faible l'infection sanguine s'éteint aussi en quelques jours.

Parasitémie (GRP pour 100 GR)

Jours	1	2	3	4	5	6	7
Rat 207	15		0,1			0	
Rat 209	15		2	0			
Rat L5	15	2					
Rat 85	40		25			+	
Rat 105	45		0				
Rat 109	5		60		40		0

Dans ce tableau, le jour 1 représente le jour de la parasitémie maxima.

Cette « crise » a été signalée par A. Corradetti et F. Verolini, travaillant sur 6 rats, sous nom de « crise parasitolytique », « diminution progressive du nombre des parasites allant jusqu'à leur disparition » ; les chiffres que rapportent ces auteurs au sujet de la parasitémie de 4 rats guéris montrent la rapidité de cette décroissance, beaucoup plus rapide que la durée de la phase ascensionnelle [20]. Cette crise chez le Rat correspond à celle que l'on observe chez le Singe infecté avec *P. brasilianum* (W. H. Taliaferro) [78].

Au cours des infections légères, le déclin se fait plus lentement, plus progressivement, mais on y observe les deux autres phénomènes que nous allons étudier.

b) *Apparition de formes de souffrance.*

On entend par « formes de souffrance » l'aspect anormal que prennent certains parasites après coloration par le Giemsa : leur protoplasme perd sa coloration franche, et ses limites précises ; ses contours s'estompent et on le distingue mal du stroma globulaire, comme s'il y avait lyse endoglobulaire des parasites : certains hématozoaires ne sont plus représentés que par leur chromatine entourée d'une auréole claire et de quelques taches bleues plus foncées, vestiges du protoplasme qui disparaît.

Les auteurs américains (W. H. Taliaferro) désignent ces aspects sous le nom de « crisis forms », qu'ils retrouvent dans les paludismes simiens.

Ces formes de souffrance commencent à apparaître, en petit nombre, vers le milieu du stade d'état ; elles se remarquent en grand nombre au stade critique et sont encore observées, mais de moins en moins nombreuses, au stade de déclin dans les hématies polychromatophiles et dans quelques globules rouges acidophiles ou de teinte intermédiaire. Elles témoignent sans

Stade	*Proportion d'hématies parasitées*	*Caractères des hématies parasitées*	*Hématozoaires*	*Parasitisme*	*Formes de souffrance*
Stade I (début)	+	acidophiles	trophozoïtes	monoparasitisme	0
Stade II (état)	de + à +++++	polychromato-philes	tous les stades	polyparasitisme	+
Stade III (crise)	+++++	polychromato-philes	tous les stades	polyparasitisme	++++
		acidophiles ou intermédiaires	trophozoïtes	monoparasitisme	++
Stade IV (déclin)	de ++++ à 0	acidophiles	trophozoïtes	monoparasitisme	+ ou 0
		polychromato-philes	tous les stades	polyparasitisme	+ ou 0

Tableau . Les quatre stades de l'infection sanguine du Rat infecté par *P. berghei* [36].

doute d'une immunité spécifique qui est en train de s'acquérir. Comme le dit W. H. Taliaferro à propos de *P. knowlesi* : « They are probably associated with parasitical effects of acquiral immunity since they have been described in several others species of plasmodia, chiefly a the time of the intense immune reaction associated with the crisis » [86].

c) *Diminution du nombre des mérozoïtes sur rosace.*

Alors que le nombre des mérozoïtes par rosace varie en début d'infection de 18 à 30, à la période de crise les rosaces ne sont plus constituées en général que par 6 à 12 mérozoïtes [49].

Ce même phénomène de diminution du nombre des mérozoïtes par rosace au moment de la crise a déjà été observé avec *P. cathemerium* chez les canaris, avec *P. brasilianum* chez les singes d'Amérique centrale, avec *P. floridense* chez les lézards, avec *P. cynomolgi* chez les singes rhesus [81].

Pour W. H. et L. G. Taliaferro, « la diminution du nombre des mérozoïtes par rosace est vraisemblablement due à une action anti-parasitaire de quelque facteur sérologique ».

II. — L'absence de rechutes spontanées.

Alors que dans d'autres paludismes transmis par mérozoïtes on peut observer des récidives après guérison de l'accès de première invasion (canari infecté avec *P. relictum*, singe rhesus avec *P. cynomolgi*, Homme avec *P. vivax*), le *P. berghei* ne provoque pas chez le rat de nouveaux accès après guérison. Les animaux, observés pendant des semaines, ne présentent jamais de rechutes parasitémiques comparables à la primo-infection, même sur un mode mineur.

Mais s'il n'y a pas de ces récidives importantes, on peut parfois déceler la présence dans la circulation de quelques rares parasites.

C'est ainsi qu'il arrive d'observer, dans les jours qui suivent, la présence éphémère d'un globule rouge parasité pour 1.000, 5.000 ou 10.000 hématies. Rapportant les faits observés dans notre laboratoire, P. Grellet écrit qu'après guérison « il n'est pas rare de voir les jours suivants quelques hématozoaires isolés parfaitement constitués, à l'intérieur d'hématies éosinophiles ; ils finissent par disparaître à leur tour en quelques jours » [49]. Avec G. Fabiani, R. Vargues, P. Grellet et

Mme A. Verain, nous avons rapporté que « fait fondamental, il n'y a pas de rechutes spontanées ; nous n'en avons jamais observé, pas plus que les autres chercheurs. Toutefois dans les semaines qui suivent la guérison clinique on peut observer de façon épisodique quelques rares hématozoaires dans le sang, parasitémie très faible (de l'ordre de un globule rouge parasité pour 5.000 ou 10.000) et sans lendemain ; le sang peut rester encore infectant pour la souris pendant quelques semaines » [35]. A. Corradetti suit quotidiennement 24 rats depuis la fin de l'attaque primaire pendant des périodes variant de 28 à 205 jours ; chez 20 de ces animaux, il ne constate jamais sur lame la présence de parasites ; chez les 4 autres, un parasite est, certains jours, observé de façon sporadique et jamais après le 50e jour [18]. R. H. Black soumet également à un examen journalier 25 rats ; tous présentent quelques hématozoaires durant 1 à 5 jours dans un espace de temps de 6 à 22 jours après guérison de la primo-infection ; ces hématozoaires sont en faible nombre : « the great majority of recrudescences reached a parasite density of only one, two or three parasites per 50 fields » (un champ = 100 hématies) « but one rat (n° 161) showed a count of seven parazited red cells per 500 red cells » [4].

Et si la lecture au microscope d'un frottis ne décèle aucun parasite, la présence de celui-ci dans le sang est parfois démontrable en inoculant une souris avec le sang de cet animal. C'est que, en effet, il peut y avoir une parasitémie trop faible pour être observée à l'examen d'un frottis : on peut admettre que les hématozoaires ne sont vus que s'ils atteignent la densité de 1 pour 5.000 ou au maximum 10.000 hématies. Ainsi notre rat S 11, guéri de sa primo-infection depuis 5 jours et dans le sang duquel aucun hématozoaire n'est visible, infecte une souris auquel son sang est inoculé. G. Raffaële et A. Baldi injectent à des souris du sang de 4 rats guéris de leur primo-infection ; « deux subinoculations pratiquées à 25 jours et 100 jours après l'inoculation donnèrent toutes deux des résultats positifs » ; les deux autres, pratiquées 30 et 90 jours après l'inoculation, furent toutes deux négatives [58]. R. H. Black constate le même pouvoir infectant, pour la souris, du sang de deux rats alors qu'aucune parasitémie n'est visible au microscope ; l'un d'eux sacrifié au 55e jour après la fin de la primo-infection possède du sang encore infectant pour la souris à la dose de 1/3 de cc ; l'autre rat sacrifié au 78e jour a un sang qui n'est pas infectant pour la souris à la dose de 1/3 de cc [4].

Ainsi, il peut y avoir de façon épisodique, après la phase aiguë, pendant la période d'infection latente, de brèves apparitions de globules rouges parasités dans le sang, et cela pendant une période qui ne dépasse pas quelques semaines. Lorsque la présence d'hématozoaires n'est décelable que par subinoculation à la souris, on ne peut évidemment parler de rechute mais seulement de période latente ou « métacritique » (Edm. Sergent). Lorsque les hématozoaires sont découverts par examen de frottis, ceux-ci sont en nombre si faible que cette parasitémie n'a rien de comparable avec celle de la primo-infection ; et bien que Black, à partir de ces faits, conclue à l'existence de « recrudescences », terme qu'il emploie aussi pour désigner les rechutes à la suite de splénectomie, il ne semble pas que l'on puisse employer cette expression, car il n'y a là rien de commun avec le réveil du paludisme après malariathérapie chez l'Homme ni avec les rechutes observées après splénectomie. Aussi est-il bien vrai que : « Il *P. berghei*, transmesso al ratto mediante inoculazione di sangue infetto, non produce recidive, ma l'infezione si estingue subito dopo la cessazione dell'attacco primario » [18].

III. — La résistance aux réinoculations.

Après disparition spontanée de la parasitémie, le rat guéri « cliniquement » est réfractaire à une nouvelle inoculation, fait essentiel dont il faut analyser les modalités.

A. *Réinoculation de faibles quantités d'hématozoaires.*

21 rats ont été inoculés avec des doses faibles de globules rouges parasités (de 100.000 à 5 millions), et ensuite examinés chaque jour : 3 ont eu une simple « sortie » d'hématozoaires après quelques jours, un seul a présenté pendant 5 jours une parasitémie faible (inférieure à 1 p. 1.000) ; chez les autres rats, l'examen du sang a toujours été négatif. La répétition des injections à doses faibles ne donne pas des résultats réguliers : il peut y avoir échecs successifs des réinoculations, ou « sortie » d'hématozoaires à la deuxième réinoculation alors que la première n'avait rien provoqué, ou légère apparition de parasites à la première réinoculation seulement mais non aux suivantes.

Par ailleurs, nous avons signalé plus haut que les mêmes échecs de réinoculations ont été observés chez le Rat blanc par les autres chercheurs (Corradetti, Raffaële et Baldi).

B. *Réinoculation de quantités importantes d'hématozoaires.*

Devant cette résistance de l'animal, qui paraissait absolue aux doses courantes, et bien que Vincke et Van den Bulke n'aient obtenu aucune parasitémie avec réinoculations de doses fortes chez le *Rattus rattus*, nous avons eu recours à des injections intrapéritonéales de quantités « massives » de globules rouges parasités (de 200 à 800 millions) selon la technique décrite par G. Fabiani et R. Vargues et qui, chez le rat neuf, supprime la période prépatente, provoque une parasitémie qui le lendemain de l'injection atteint 1, 2 ou 3 p. 100 [32]. L'injection intracardiaque [95] offre les mêmes réponses mais, étant difficile à pratiquer, nous ne l'avons utilisée que chez quelques animaux.

Cette technique offre ici un double avantage : elle permet de provoquer dès l'injection (intracardiaque massive), ou dès les premières heures (intrapéritonéale massive) une parasitémie visible microscopiquement et que l'on peut suivre dès lors ; elle permet, d'autre part, de constater s'il y a multiplication des hématozoaires injectés ou simple passage sans multiplication.

Pour constater cette multiplication, une précaution est indispensable : il faut choisir pour l'animal donneur un rat à l'acmé de son infection. A ce moment, en effet, les hématozoaires parasitent presque uniquement (et multiparasitent) des globules rouges polychromatophiles, franchement colorés en bleu-violet par le Giemsa et dont la taille est nettement supérieure à celle des hématies mûres d'un rat normal. Lorsque ces globules rouges polychromatophiles volumineux et multiparasités apparaîtront dans la circulation du rat testé, ils seront aisément reconnaissables ; et lorsque, quelques heures plus tard, des hématies du receveur seront à leur tour parasitées elles s'en distingueront par leur taille normale, leur coloration rosée, leur monoparasitisme. L'apparition de ces dernières sera la preuve qu'il y a eu multiplication des hématozoaires : leur absence, qu'il y a eu simple passage des hématies parasitées injectées, sans multiplication des plasmodies.

a) *Résultats obtenus durant les premières vingt-quatre heures chez le Rat neuf inoculé de façon massive dans la cavité péritonéale.* — Nous rappellerons d'abord les résultats obtenus chez le Rat neuf, primo-infecté par injection péritonéale massive et suivi, pendant le premier jour, à des intervalles de temps rapprochés. « Les hématies polychromatophiles de grande taille multiparasitées du donneur apparaissent dans le sang circulant

après une heure, parfois après un quart d'heure. On en trouve alors 1, 2 ou 10 pour 10.000 hématies normales (jusqu'à 1 ou 2 pour 1.000 hématies), puis leur taux décroît, devient très faible à la vingt-quatrième heure et ces hématies disparaissent ensuite définitivement. Dès la troisième heure apparaissent des trophozoïtes jeunes dans des globules rouges acidophiles de petite taille, appartenant donc à l'animal receveur. Leur proportion est alors très faible (de 3 à 10 pour 10.000 hématies normales) mais augmente progressivement pour atteindre 2 p. 100 à la vingt-quatrième heure ». (G. Fabiani et R. Vargues) [32].

Exemples :

Rat	GRP injectés IP (en millions)	Parasitémie durant les premières 24 heures (GRP p. 10.000 GR)						
			1/2 h.	1 h.	3 h.	6 h.	15 h.	24 h.
180	800	GRP du donneur	1	2	9	10	7	0
		GRP du receveur	0	0	1	10	95	200
181	800	GRP du donneur	2	2	3	20	15	0
		GRP du receveur	0	0	1	20	185	200
184	300	GRP du donneur	0	4	5	5	7	0
		GRP du receveur	0	0	5	45	145	200

b) *Première série d'expériences : inoculation massive intrapéritonéale chez le Rat guéri de sa primo-infection* (41 animaux).

« ...Les hématies polychromatophiles parasitées injectées « apparaissent dans le sang circulant au cours de la première « heure qui suit l'inoculation. Leur nombre croît jusqu'à la « dixième heure, puis décroît et on ne retrouve pratiquement « plus ces formes 24 heures plus tard. Dès la troisième heure « qui suit l'inoculation, une génération plasmodiale nouvelle, « parasitant les hématies de l'animal « receveur », apparaît. Ces « hématozoaires ne sont pas nombreux et disparaissent totale- « ment en 48 heures » [31].

Ainsi, l'on a une parasitémie qui persiste pendant 48 heures, et il y a multiplication des hématozoaires injectés qui ont pu parasiter des cellules du receveur.

Rat	Jours écoulés entre guérison primo-inf. et IPM.	GRP injectés (en millions)	Parasitémie (GRP p. 10.000 GR)						
			aux heures :	1	3	6	15	24	48	72
170	2	300	GRP donneur	2	6	4	0	0	0	
			GRP receveur	18	34	36	40	40	0	
159	7	400	GRP donneur	2	10	8	1	0	0	
			GRP receveur	0	10	14	20	1	0	
230	15	300	GRP donneur	3	6		6	0	0	0
			GRP receveur	0	0		38	65	50	0

c) *Deuxième série d'expériences : inoculation massive intrapéritonéale chez le Rat qui a subi une ou plusieurs injections péritonéales massives après guérison de sa primo-infection* (29 animaux).

On ne voit alors que de très rares hématies parasitées dans le sang, la multiplication des hématozoaires est très faible, persiste le plus souvent moins de 48 heures et parfois ne se produit pas du tout. On peut même ne déceler dans le sang aucun des hématozoaires introduits dans le péritoine en très grand nombre [31].

Exemples :

Rat	Nombre d'IPM antérieures	Délai depuis dernière IPM	GRP injectés en millions	Parasitémie (GRP p. 10.000 GR)						
				aux heures :	1/2	1	3	6	15	24	48
94	1	11 j.	400	GRP donneur					0		0
				GRP receveur					12		0
78	2	5 j.	400	GRP donneur	0	1	2	1	1	0	
				GRP receveur	0	0	0	0	0	0	
93	3	16 j.	300	GRP donneur	0	0	0	0	0	0	
				GRP receveur	0	0	0	0	0	0	
107	1	26 j.	360	GRP donneur	0	0	0	0	0	0	
				GRP receveur	0	0	0	0	0	0	

Si l'on compare les chiffres obtenus chez le même rat entre la première réinoculation intrapéritonéale massive et la réinoculation suivante, on voit nettement que la parasitémie est plus faible à cette nouvelle réinoculation. Exemple, rat 159 :

	Heures :	1/2	1	3	6	15	24	48
Première IPM	GRP donneur	0	2	10	8	1	0	0
(27-6)	GRP receveur	0	0	10	14	20	1	0
Deuxième IPM	GRP donneur	0	1	1	1	0	0	
(3-7)	GRP receveur	0	1	0	0	0	0	

Rat 159 (GRP p. 10.000 GR)

Si la réinoculation se fait par voie *cardiaque* (au lieu de péritonéale), les phénomènes observés sont les mêmes, c'est-à-dire la durée de la parasitémie et la multiplication des hématozoaires est la même que lors d'une injection intrapéritonéale massive : seul le taux de la parasitémie est plus élevé pendant les premières heures. (5 animaux).

Note. — Les exemples que nous avons donnés correspondent à des cas où il ne s'était écoulé qu'un intervalle de temps de quelques semaines entre l'injection massive et la primo-infection, ou entre deux injections massives.

Dans les cas où l'intervalle est de plusieurs mois, le taux de parasitémie *peut* monter un peu plus, jusqu'à 2 p. 100, et la durée de la parasitémie est un peu plus longue (elle persiste 3 à 4 jours). L'immunité aux réinfections persiste donc, mais avec un léger fléchissement : comme elle permettait plus haut d'apprécier des degrés dans le renforcement de l'immunité, l'injection intrapéritonéale massive permet ici d'apprécier des degrés dans le fléchissement de l'immunité.

Exemples :

Chez le rat 61, il persiste une forte immunité 73 jours après guérison de la primo-infection.

GRP injectés (en millions)		1/2 h.	1 h.	3 h.	6 h.	15 h.	24 h.	48 h.
800	GRP donneur	1	1	3	10	2	0	
	GRP receveur	0	0	1	10	30	10	0

Chez les rats 94, 94 a, 94 b et 139, au contraire, il y a une moins forte immunité après 5 à 7 mois que chez les animaux éprouvés par injection intrapéritonéale massive quelques semaines seulement après guérison de l'infection première ou après injection massive de rappel.

Rat	Délai depuis dernière IPM ou depuis dernière primo-infection	Parasitémie (GRP p. 10.000 GR)						
		1 h.	15 h.	24 h.	48 h.	3 j.	4 j.	5 j.
94 (immun)	7 mois	5	150	200	200	20	0	0
94 a (hyper-immun)	6 mois		20	50	100	150	20	0
94 b (hyper-immun)	6 mois		20	50	200	150	0	
139	5 mois	2	150	200	0			

Discussion. — Ces injections massives montrent donc :

a) *L'existence d'une forte résistance à la réinfection* chez l'animal guéri de sa primo-infection. La parasitémie reste faible, ne dure que deux jours (rarement trois ou quatre) ; c'est un tableau sanguin entièrement différent de celui de la primo-infection, aussi bénin et bref que celui de la primo-infection peut être sévère et est long. Si l'on remarque que pour provoquer de de façon constante l'infestation de l'animal adulte et neuf il faut une dose intrapéritonéale de 10.000 hématozoaires, et que pour avoir une apparition d'hématozoaires dans le sang d'animal immun il est nécessaire d'injecter dans le péritoine des chiffres voisins de 300 millions de globules rouges parasités, cela mène à dire que pour vaincre la résistance à la réinfection (et cela d'une façon faible et transitoire) il faut une dose de parasites près de 30.000 fois supérieure à la dose minima infectante pour l'animal adulte neuf. Cela montre en même temps que la résistance n'est pas absolue comme aurait pu le faire croire une inoculation à dose plus faible.

b) *L'augmentation de cette résistance* à mesure que l'animal reçoit de nouvelles injections. En effet, le temps de patence diminue, peut même s'annuler dans le cas de la voie péritonéale :

on n'a qu'une multiplication beaucoup plus faible, ou pas de passage, véritable refus de l'organisme à l'infection. C'est ainsi que chez nos prémunis nous avons observé un passage et une multiplication transitoire mais relativement forte [61, 159, 170], tandis que chez nos hyperimmuns la multiplication a été encore plus faible et très brève [159], ou il y a eu passage sans multiplication [78] ou pas de passage [93, 107].

c) Cette technique permet d'envisager la notion de « *degrés* » *d'immunité,* ces degrés étant représentés par le temps plus ou moins long de la parasitémie, le plus ou moins important développement des hématozoaires chez l'hôte. On a ainsi la « possi- « bilité d'introduire dans la recherche immunologique des tests « quantitatifs d'immunité » (G. Fabiani et R. Vargues) [31].

d) D'où apparaît la possibilité d'étudier les variations, les fléchissements éventuels de l'immunité à mesure que s'allonge le temps depuis la guérison ou la réinoculation.

Commentaires. — Les avantages de cette technique d'inoculation massive sont les suivants :

— on met en évidence une très faible réceptivité qui ne se serait pas manifestée avec un inoculat faible ;

— on obtient un résultat rapide (l'épreuve se juge en 24 heures ou 48 heures), avant que l'introduction de parasites ait pu réveiller, donc modifier, l'immunité ;

— on obtient des résultats mesurables, pouvant être chiffrés, et échappant ainsi aux erreurs d'une appréciation subjective.

IV. — La disparition spontanée de l'infection latente.

Laissée à son évolution spontanée, l'infection à *P. berghei,* — chez le Rat qui a survécu à l'accès initial aigu —, continue silencieusement son évolution sous la forme d'infection latente ; puis le parasite finira par disparaître complètement de l'organisme.

Nous reviendrons plus en détail sur ce point dans un chapitre ultérieur Disons seulement qu'à partir d'un certain laps de temps après l'impaludation, l'inoculation à la souris de quantités importantes de sang ou de broyats d'organes ne provoque pas d'infection chez cet animal ; ainsi Black constate que le sang et les organes d'un rat impaludé 91 jours auparavant laissent indemnes les souris inoculées [4] ; de même Raffaele

et Baldi signalent « qu'une tentative de réinoculation à 90 jours de la primo-infection a échoué » [58]. Et l'extrême limite à laquelle un parasite a été observé sur frottis sanguin par A. Corradetti, est le 50e jour après cessation de l'attaque primaire [18].

Cette disparition totale de l'hématozoaire après un temps variable n'est d'ailleurs pas spéciale au paludisme à *P. berghei* ; c'est au contraire le destin normal du *Plasmodium* dans tout paludisme laissé à son évolution naturelle, en dehors de toute réinfection.

CHAPITRE II

Les facteurs de l'immunité

§ 1. — Immunité naturelle.

L'immunité naturelle est la résistance, due à des facteurs *non spécifiques*, que présente l'organisme à une infection. « Innate immunity involves immunologically non specific fac- « tors and is operative throughout the course of the infec- « tion » [81]. Elle s'oppose d'un point de vue théorique à l'immunité acquise qui met en action des moyens de défense spécifiques ; mais en pratique ces deux grands mécanismes s'associent, et à la résistance innée, qui existe seule chez un animal avant l'infection, se surajoute l'immunité acquise après guérison.

Dans le chapitre précédent, nous avons parlé des faits fondamentaux de l'immunité chez le Rat blanc. Ce sont des manifestations de l'immunité acquise. Aussi avant d'étudier les facteurs de la résistance naturelle contre *P. berghei* serons-nous obligé d'exposer comment on peut la mettre en évidence.

A. — Mise en évidence de l'immunité naturelle.

Qu'une résistance de l'organisme se manifeste contre l'hématozoaire dès les premières heures de l'infection, cela a été mis en évidence déjà dans d'autres paludismes. Pour nous en tenir à un seul exemple, rappelons les études de W. H. Taliaferro sur les paludismes simiens. Il s'agit d'espèces plasmodiales qui évoluent chez le singe suivant un cycle synchrone ; en comptant le nombre de mérozoïtes par rosace et en sachant la proportion de celles-ci par rapport à 10.000 globules rouges, on calcule aisément le pourcentage de trophozoïtes que l'on devrait trouver dans le sang après éclatement de ces rosaces. Or, ces parasites sont en réalité beaucoup moins nombreux que le calcul ne le faisait prévoir ; un certain nombre d'entre eux a donc été

détruit, et détruit par des facteurs non spécifiques puisqu'une immunité acquise n'a pas eu le temps de se constituer.

a) Cette technique, à la fois simple et sûre, n'est pas applicable avec une aussi grande précision dans le cas de *P. berghei* : les cycles y sont trop intriqués ; sur chaque étalement de sang voisinent des formes d'hématozoaires d'âges les plus divers, du jeune trophozoïte au vieux schizonte.

Néanmoins, on est en droit d'affirmer la destruction d'un nombre important de trophozoïtes à chaque rupture de rosaces. Ces dernières contiennent 15 à 20 éléments ; puisque la durée de chaque cycle est de 24 heures au maximum, il devrait donc y avoir le lendemain, si chaque mérozoïte libéré parasitait un globule rouge, 15 fois plus de globules rouges parasités ; or, la parasitémie n'augmente que faiblement pendant les premiers jours de la période patente. Citons comme exemple un seul animal (le rat 217 : le jour 1 est celui où commence la période patente) :

Jours	1	3	5	8	10	12	15
GRP (p. 100 GR)..	0,30	2	2	10	17	50	70

On ne peut pousser plus avant, c'est-à-dire calculer le pourcentage de trophozoïtes détruits à chaque éclatement de rosaces : mais un calcul très simple montre que, dès le 5e jour, la totalité des hématies devrait être parasitée.

b) Un autre procédé permet de mettre en évidence de façon bien nette ce phénomène d'immunité naturelle. Il est de pratique quotidienne, dans notre laboratoire, d'impaluder des animaux avec des quantités importantes et connues de globules rouges parasités. Chez 37 animaux ainsi inoculés, nous avons suivi au jour le jour la courbe de parasitémie. On constate que celle-ci monte en un jour à 1, 2 ou 3 p. 100 et qu'elle *se maintient* à ce taux, ou légèrement plus bas, *pendant trois ou quatre jours*. Tout se passe comme si le parasite se heurtait à un obstacle qui entravait sa multiplication au-dessus d'un certain niveau ou provoquait la destruction de la grande majorité des mérozoïtes et s'opposait à leur pénétration dans les hématies. Comme il est facile de voir au microscope que la schizogonie s'effectue normalement, c'est donc cette deuxième hypothèse qui est la vraie. On saisit là, sur la courbe de parasitémie, l'expression tangible de l'action de cette immunité naturelle que possède l'organisme du Rat vis-à-vis de *P. berghei*.

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR)					
aux jours :	1	2	3	4	5	6
259	2	1	1	3	10	—
188	3	2	1	2	20	
199	2	4	4	3		10
268	3	2	3	6		12
299	3	2	3	20		
422		2	1,5	2	25	
S 186	1,5	3	2,5	2	4	14
L 4	1	2,5	2	2	4	6
293	3	2	2	10		
294	2	3	2	10		
263	2	1	3	10	18	
264	3	2	3	8	10	15
300	3	2	0,5	0,5	1,5	6

Le jour 1 représente le lendemain de l'impaludation.

B. — Les facteurs de l'immunité naturelle.

L'immunité naturelle mise en évidence, reste à en découvrir les facteurs, ou au moins quelques facteurs essentiels.

I. — *Recherche du rôle du système réticulo-endothélial : la splénectomie.*

Nous nous sommes tournés d'abord vers le système réticulo-endothélial. L'hyperplasie précoce de celui-ci au cours du paludisme, — dans la rate et le foie en particulier —, ne représenterait-elle pas en effet l'exagération de la réaction de défense phagocytaire normale ? Pour diminuer la part possible de la phagocytose, nous avons splénectomisé 10 animaux *avant* de les inoculer.

a) *Injection intrapéritonéale massive : son évolution durant les premières 24 heures.*

Deux animaux, splénectomisés l'un la veille (197) l'autre le jour même (203), ont reçu dans le péritoine plusieurs centaines de millions de globules rouges parasités. L'examen des frottis sanguins pratiqué à des intervalles de temps rapprochés a montré les résultats suivants, identiques à ceux que nous avons signalés plus haut chez les rats non splénectomisés :

Rat	Temps après l'injection	15 m.	1 h.	3 h.	6 h.	9 h.	24 h.
197	Parasitémie (p. 10.000 GR)	0	1	20	30	50	100
	Pourcentage de GRP du donneur		1	19	12	5	0
	Pourcentage de GRP du receveur		0	1	18	45	100
203	Parasitémie (p. 10.000 GR)	0		20	40		100
	Pourcentage de GRP du donneur			19	26		0
	Pourcentage de GRP du receveur			1	14		100

b) *Injection intrapéritonéale massive : son évolution pendant les premiers jours.*

Quatre animaux — trois splénectomisés le jour de l'inoculation, un la veille (197) — ont présenté la courbe parasitémique suivante durant les premiers jours, après inoculation intrapéritonéale massive. On voit que la courbe a le même aspect que chez l'animal neuf, c'est-à-dire présente un palier de quelques jours. Dans le tableau, le jour 1 représente la 24e heure après l'inoculation.

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR)					
aux jours :	1	2	3	4	5	6
S 88	3	2	3	6	10	
L 44	3	2	2	1,5	10	
197	1	2,5	2	3	10	
203	1	2	2,5	2		30

c) *Injection intrapéritonéale d'hématozoaires à doses faibles : évolution de la parasitémie pendant les premiers jours.*

Cinq animaux splénectomisés ont été inoculés avec des quantités faibles d'hématozoaires. L'inoculation était faite le jour même de la splénectomie, sauf chez un rat (132) dont la splénectomie remontait à 12 jours. On voit que le temps de latence est comparable à celui observé chez les animaux non splénectomisés.

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR)												
aux jours :	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
132		0				2			1		10		5
215	0	0	0	0	0		10	15					
370			3			7							
371			2		3	7							
L 45		0,5	3	5		3	8	6	6				

d) *Cas atypique.*

Un animal, parmi ces dix rats, a présenté une courbe de parasitémie atypique. Ce rat avait été splénectomisé deux jours avant de recevoir une inoculation intrapéritonéale massive. Il présente ceci de particulier : au lieu de marquer un plateau, la courbe est régulièrement ascendante pendant les trois premiers jours. Nous verrons, un peu plus loin, comment l'on peut rendre compte de ce phénomène.

Rat 267

Jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
GRP (p. 100 GR)	0	5	8	15	8	8	6	6	12	15	12	0

Discussion. — Puisque l'ablation de la rate avant impaludation ne modifie pas l'aspect de la courbe de parasitémie des premiers jours, il semble donc que la rate n'intervienne pas dans le processus d'immunité naturelle. En d'autres termes, la résistance à l'infection observée dans les premiers jours de la maladie ne serait pas causée principalement par une action de phagocytose. Cette constatation corrobore ce que l'on savait dans d'autres paludismes ; c'est ainsi que W. H. Taliaferro, à la suite de ses recherches sur le paludisme simien, écrivait : « la splénectomie... n'affecte pas l'immunité naturelle », « la stimulation de la phagocytose est due à l'immunité acquise » [85]. On ne sait cependant pas par quel mécanisme disparaissent les mérozoïtes.

II. — *Le rôle des réticulocytes.*

Avec G. Fabiani et J. Clausse, nous avons été amenés à considérer le rôle et les variations d'un élément de réceptivité naturelle à l'infection palustre, peu envisagé jusqu'ici à notre connaissance : c'est l'hématie elle-même.

Dans notre introduction, il a été rappelé l'abondance des globules rouges immatures au moment de l'acmé de l'infection. Elle s'explique aisément par l'activité intense de la moelle qui doit lancer dans la circulation un nombre important d'hématies pour compenser l'anémie. Ces globules rouges immatures sont parasités avec électivité par les hématozoaires, alors que les hématies mûres sont comme délaissées par le parasite. H. Galliard, en 1949, notait la prédominance du parasitisme

des cellules jeunes (hématies nucléées, hématies polychromatophiles) [44]. A. Baldi, en 1950, étudiant des étalements colorés au bleu de crésyl brillant, constate que *P. berghei* a une préférence pour les globules rouges jeunes et immatures, écrit que ce tropisme pour les réticulocytes est « non seulement occasionnel « mais nécessaire pour sa multiplication massive » et prédit que le réticulocyte peut donner « l'explication de divers faits « biologiques et cliniques qui se rencontrent dans le cours de « l'infection » [1]. A. Corradetti et F. Verolini, en 1951, reconnaissent eux aussi « la grande affinité des parasites pour les « globules rouges immatures » : mais pour eux le globule rouge immature se définit par la coloration de son protoplasme avec la méthode de Giemsa : alors que le globule rouge mûr prend une teinte franchement rose, le globule rouge immature est celui dont le protoplasme vire au violet ou au bleu ; sont donc considérés comme globules rouges immatures seulement le polychromatophile et l'érythroblaste : les auteurs constatent qu'aux tous premiers jours de l'infection patente ce sont les globules rouges « mûrs » qui sont parasités, mais que lorsque apparaissent les polychromatophiles et les érythroblastes, les hématozoaires manifestent une affinité toute particulière pour ceux-ci [20]. De même, le tropisme des plasmodies pour le réticulocyte est souligné par Ramakrishman et coll., Sherwood Jones et coll. [52, 73].

a Cette affinité presque élective de l'hématozoaire pour l'hématie immature, — polychromatophile (Galliard, Corradetti) ou réticulocyte (Baldi) —, si marquée au moment de la phase maxima de la parasitémie, nous a incité à préciser les rapports qui existent entre ces deux éléments tout au début de l'infection. Les hématologistes admettent l'identité de la substance basophile qui donne la polychromatophilie de l'hématie après fixation et coloration panoptique, et de la substance granulofilamenteuse mise en évidence par coloration vitale. Mais un certain nombre d'hématies jeunes, n'ayant que peu de substance basophile, n'auraient pas de polychromatophilie marquée alors que ce sont pourtant des réticulocytes ; c'est pourquoi nous nous sommes attachés à l'étude des réticulocytes, car leur détermination est plus précise et plus sûre que celle des polychromatophiles.

Chez le Rat neuf, la réticulocytose sanguine est en moyenne de 1 à 2 pour 100 globules rouges notons que c'est précisément le pourcentage de globules rouges parasités que l'on obtient 24 heures après injection péritonéale massive et qui persistera

à ce niveau pendant 2-3 jours). Après injection massive intrapéritonéale selon notre technique de routine, les frottis du lendemain montrent que les hématozoaires se trouvent exclusivement dans les réticulocytes. Et les jours suivants la courbe parasitémique épouse étroitement la courbe de réticulocytose. Nous avons ainsi suivi 13 animaux au cours de leur évolution normale. Voici, à titre d'exemples, les chiffres obtenus chez 5 rats :

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR) et réticulocytose					
aux jours :	1	2	3	4	5	6
S 186	1,5 (5)	3 (3)	2,5 (3)	2 (3)	4 (4-5)	14 (15)
S 73	2 (1-2)	3 (2)	5 (4-5)	5 (5)	6 (6-7)	15 (20)
L 4	1 (2)	2,5 (3)	2 (2)	2 (3)	4 (4)	6 (7)
246	0,03 (2)	1 (2)	3 (2)	4 (4)	5 (5)	12 (13)
268	3	2 (3)	3 (5)	6 (6)	5 (5)	12 (12)

La parasitémie et la réticulocytose sont chiffrées par rapport à 100 hématies. Le premier chiffre indique le pourcentage de globules rouges parasités ; le deuxième chiffre, entre parenthèses, est celui du pourcentage des réticulocytes.

b) A la suite de ces constatations, nous nous sommes demandé si le plateau de la parasitémie n'était pas dû au faible nombre d'éléments réceptifs, c'est-à-dire de réticulocytes, dans le sang. Aussi avons-nous cherché à modifier le taux de la réticulocytose, soit en l'augmentant, soit en l'empêchant de s'élever.

Pour augmenter la réticulocytose du Rat, nous nous sommes adressé au chlorhydrate de phénylhydrazine. Le rat neuf est préparé par injection sous-cutanée de ce produit à la dose de 1 mgr. pour 100 g. ; après 2 à 4 jours, le taux de la réticulocytose atteint 10 à 30 p. 100 : c'est à ce moment que l'on inocule l'animal par voie intrapéritonéale.

Dix-sept animaux ont été ainsi traités. On a suivi de 24 heures en 24 heures le taux de leur réticulocytose et de leur parasitémie et observé parmi les globules rouges parasités les proportions relatives de réticulocytes et de globules rouges mûrs. Nous donnons ici quelques chiffres obtenus après injection intrapéritonéale massive.

Rat	GRP et Rét. (chiffres entre parenthèses) p. 100 GR		
aux jours :	1	2	3
L 3	3 (20)	24 (22)	
L 11	0,6 (10)	7 (10)	13 (13)
L 12	0,6 (10)	3 (12)	16 (13)
L 28	3 (3)	15 (15)	
S 187	3 (10)	8 (12)	8 (10)

Ainsi, alors que chez le rat normal l'injection intrapéritonéale d'une très forte quantité d'hématozoaires donne le lendemain et les 3 ou 4 jours suivants une parasitémie qui ne dépasse pas 3 p. 100, chez le rat dont la réticulocytose a été artificiellement augmentée par la phénylhydrazine, le taux de parasitémie monte beaucoup plus haut et correspond à celui des réticulocytes.

Remarque. — Cette même affinité pour les globules rouges immatures se retrouvait dans le cas de deux animaux que nous avons cités plus haut et que nous pouvons interpréter maintenant. Il s'agissait de rats qui avaient été splénectomisés avant impaludation. Chez l'un, le rat 215, après une période prépatente de 5 jours, la parasitémie monte brusquement en 48 heures à 10 p. 100 ; or cet animal avait présenté durant le temps de prépatence une bartonellose qui avait provoqué une forte anémie, d'où une réaction de la moelle qui avait lancé dans la circulation des globules rouges immatures. Chez l'autre animal (le 267), splénectomisé deux jours avant impaludation, nous avons suivi la réticulocytose ; les chiffres que nous en rapportons ci-dessous expliquent, par le taux des réticulocytes, l'élévation brusque du nombre des globules rouges parasités et les variations irrégulières de leur pourcentage dans le sang.

Rat 267												
Jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
GRP (p. 100 GR)	0	8	8	15	8	8	6	6	12	15	12	0
Rét. (p. 100 GR)	2	5	*10*	*15*	*9*	*9*	7	7	*12*	*15*	*14*	
Rét. parasités (p. 10 GRP)	0	7	9	10	9	9	9	9	10	10	9	
GR mûrs parasités (p. 10 GRP)	0	3	1	0	1	1	1	1	0	0	1	

c) Comme contre-épreuve, nous avons empêché l'augmentation de la réticulocytose au cours des premiers jours de l'infection. Pour cela nous avons transfusé quotidiennement 3 rats, en leur injectant dans le péritoine 1 cc de sang de rat neuf, ce sang étant rendu incoagulable par adjonction d'eau citratée.

Rat	GRP et (entre parenthèses) Rét. pour 100 GR						
aux jours:	1	2	3	4	5	6	7
L 34	0,3 (1,3)	2 (1)	1,5 (2)				
383	1 (2)	4 (4)	3 (2)	2 (2)	2 (2,5)	2 (2)	1
384	1,5 (2)	3 (3)	2,5 (2)	3 (2,5)	1,5 (3)	1,2 (2)	1,5 (2)

Le jour 1 est celui qui suit l'impaludation

Chez tous ces animaux, la parasitémie est restée faible, en rapport avec le faible nombre de réticulocytes.

d) De ces résultats sont à rapprocher les observations faites chez les différents rats dont nous avons suivi la réticulocytose au cours de leur primo-infection et qui n'avaient reçu aucune injection médicamenteuse : chez ceux dont l'infection est faible, on constate une faible réticulocytose également. Exemples :

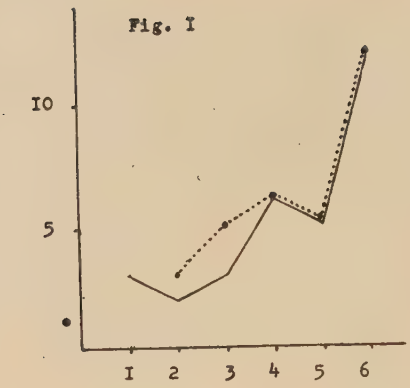
Rat	GRP et (entre parenthèses) Rét. pour 100 GR					
aux jours :	1	2	3	4	5	6
L 36	0,2 (0,5)	1,5 (2)	1,5 (1)	1 (1)	2 (1)	1,5 (2)
L 35	0,3 (1)	3 (3)	2,6 (1,5)	1 (1)	1,5 (1,5)	1 (1,5)

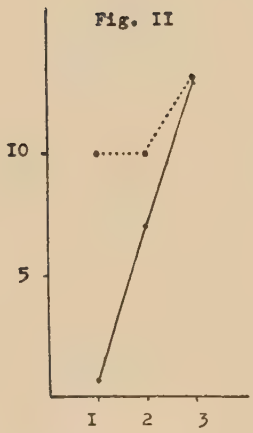
Discussion. — On voit donc que la parasitémie suit exactement la courbe des réticulocytes pendant les premiers jours de l'infection ; élevée et ascendante quand l'animal impaludé possède de nombreux réticulocytes dans son sang, elle est basse quand les réticulocytes sont maintenus à un niveau bas.

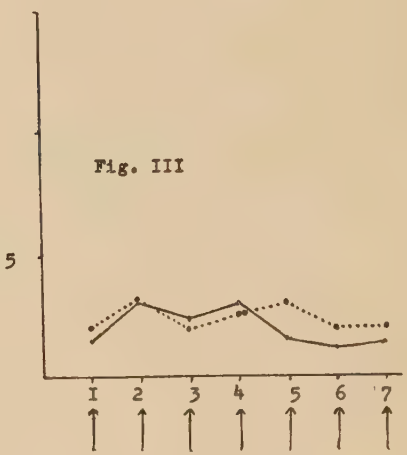
Il semble donc bien que l'on mette ainsi en évidence un facteur dominant de l'immunité naturelle manifestée chez le Rat normal aux premiers jours de l'infection à *P. berghei* : le faible nombre de cellules réceptives vis-à-vis de l'hématozoaire. L'immunité naturelle se traduit par un arrêt dans la progression de la parasitémie : or, on supprime cet arrêt en augmentant le taux des réticulocytes, on le prolonge en empêchant l'apparition d'une forte réticulocytose.

C'est probablement le taux des globules rouges jeunes qui, conformément à l'hypothèse émise par Baldi, explique, au moins en partie, l'observation de Galliard et Lapierre [46] que le paludisme est plus sévère chez le jeune Rat ; l'animal jeune a en effet une réticulocytose normalement plus élevée que l'adulte.

Le paludisme du Rat apparaît comme une des très rares maladies infectieuses au cours desquelles on peut mesurer et faire varier le facteur qui joue un rôle prédominant dans la réceptivité de l'hôte au microbe parasite ; les globules rouges jeunes représentent l'élément essentiel du terrain sur lequel se développe l'infection à *P. berghei.*







Graphiques destinés à montrer le rôle des réticulocytes dans la réceptivité du Rat primo-infecté : la parasitémie est étroitement liée aux taux de la réticulocytose.

En abcisses : les jours (Jour 1 = lendemain de l'IPM).

En ordonnées : le pourcentage des GRP et des Rét. (pour 100 GR).

En trait plein : GRP p. 100 GR.

En pointillé : Réticulocytes p. 100 GR.

Fig. I. — Evolution après IPM chez le Rat normal (rat 268).

Fig. II. — Evolution après IPM chez le Rat dont le taux des réticulocytes a été artificiellement augmenté (par phénylhydrazine) (Rat L 11).

Fig. III. — Evolution après IPM chez le Rat dont la réticulocytose est maintenue à un taux bas (par injections quotidiennes de sang dans le péritoine) (Rat 334). Transfusions sanguines : flèches verticales sous la ligne des abcisses.

§ 2. — Les facteurs agissant sur l'immunité acquise.

Plusieurs facteurs peuvent agir sur l'immunité acquise et provoquer son fléchissement. Nous avons étudié le rôle de la rate, des surrénales et de plusieurs autres facteurs qui, chez l'Homme ou chez les animaux, sont connus comme susceptibles de déterminer des rechutes de paludisme latent.

ROLE DE LA RATE

Nous n'envisagerons ici que l'*influence* que peut avoir sur l'immunité acquise, son apparition ou sa persistance, *l'ablation de la rate*. Et par comparaison avec l'animal intact nous essayerons de voir si la présence ou l'absence de ce viscère agit sur l'immunité. *Mais nous n'envisageons pas ici le mécanisme*, cellulaire ou même humoral, par lequel la rate intervient.

I. — Rôle de la rate dans la guérison de la primo-infection : résultats de la splénectomie avant l'impaludation et en cours d'accès.

Pour savoir si la rate joue un rôle important dans l'acquisition de l'immunité spécifique (nous avons vu plus haut qu'elle n'en joue pas dans l'immunité naturelle), nous avons splénectomisé des rats avant de les inoculer et au cours de l'accès de primo-infection.

a) *Rats splénectomisés avant impaludation.*

Nous avons ôté la rate de 11 animaux quelques jours ou quelques heures avant de les impaluder à dose faible ou forte.

Rat	Délai entre splén. et impalud.	GRP p. 100 hématies (les jours sont comptés à partir du moment où les parasites apparaissent dans le sang). aux jours : 1	2	3	4	5	6	7
132	14	2			2		10	
267	2	5	8	15	8	12		
197	1	1	2,5	2	3	10		0
203	0	1	2	2,5	2		30	30
215	0		10	15	15		18	0
370	0		3			6,5	0	
S 88	0	3	2	3	6	10	12	12
L 44	0	3	2	2	1,5	10	12	12
L 45	0	0,5	3	5	1	3	8	6

Rat	Délai entre splén. et impalud.	GRP p. 100 hématies (les jours sont comptés à partir du moment où les parasites apparaissent dans le sang). aux jours : 8	9	10	11	12	13	14
132	14	5 (θ)						
267	2		12			θ		
197	1							
203	0							θ
215	0							
370	0							
S 88	0		25	θ				
L 44	0	10	10	15	12	θ		
L 45	0	θ						

Nous n'avons pas rapporté dans ce tableau les rats 371 et 372. Ces deux animaux, en effet, au cours de leur évolution, ont été traités par de la nivaquine ; or, celle-ci a bien réussi à faire baisser la parasitémie, mais la mort de l'animal est cependant survenue, comme chez un animal non traité.

Rat	GRP p. 100 hématies (les jours sont comptés à partir du moment où les parasites apparaissent dans le sang). aux jours : 1	2	3	4	5	6	7	8	9	14	19
371	2		3	7 (Niv.)	6 (Niv.)	6 (Niv.)	3	+	0	0	θ
372	1	15 (Niv.)	(Niv.)	4 θ							

b) *Rats splénectomisés en cours d'accès.*

Nous avons expérimenté sur 17 animaux. Une des splénectomies (S 133) a été accompagnée d'injection intrapéritonéale d'une quantité massive d'hématozoaires, qui n'a aucunement influé sur l'évolution. Chez aucun d'eux il n'y a eu guérison parasitémique. Les résultats sont consignés dans le tableau de la page suivante.

La splénectomie, pratiquée chez ces 28 animaux avant l'impaludation ou en cours de primo-infection, a donc empêché la guérison de survenir, ce qui montre le rôle capital de la rate dans l'acquisition de l'immunité spécifique.

Il est à remarquer cependant que la splénectomie au moment de la période de crise (stade III) n'a pas empêché la courbe de parasitémie d'amorcer sa descente (rats S 182, 373, 374).

Stade de l'infection au moment de la splénectomie	Rat	GRP p. 100 GR (jour I = jour de la splénectomie) aux jours																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
I	L 50	0,3	5	6	3	6	20	12 (θ)											
	S 94	0,7	1	4		5		7 (θ)											
	L 94	2	1	3	2	8		10		8						15 (θ)			
	L 96	2	11	3	8	6	θ												
	S 167	1	3	2 (θ)															
II	420	6	3	4	2	1	3					25		3 (θ)					
	421	3	1	5	1,5	5	6					12				10 (θ)			
III	S 182	18	6	2 (θ)															
	373	7	2	3 (θ)															
	374	15	5	8 (θ															
VI	S 82	3	1	9	20	18		5		8			2		1			30	θ
	369	0,1	0,4	8	10	15				15			12	11	12		θ		
	L 83	0,01	3		10	5	12		3				3				30 (θ)		
	S 70	0,3	2	13	18 (θ)														
	S 133	0,02	0,02	0,1	0,1	4		15	8	θ									
	12	0,01	0,01			0,05		0,05		5			θ						
	184	0,01	8		5	15	11		7	10		15		5			15 (θ)		

La splénectomie au stade IV provoque une reprise de la parasitémie, mais chez 6 animaux sur 7 cette parasitémie a eu une durée longue (9 à 18 jours) avant d'amener la mort de l'animal. Il y avait donc déjà, au moment de la splénectomie, une immunité acquise assez forte. Cependant cette reprise de l'infection n'est pas comparable à la rechute qui suit la splénectomie quand l'animal est au stade d'infection latente : la parasitémie n'a pas l'allure aiguë et brève habituelle en pareille circonstance, comme nous le verrons plus loin.

Enfin, nous avons aussi observé chez ces divers rats, en fin de leur évolution, l'apparition de formes de souffrance.

Toutes ces constatations montrent qu'à côté d'une action phagocytaire, dans laquelle la rate joue un rôle important, il y a dans l'immunité acquise d'autres facteurs. Ils sont assez forts en fin d'infection pour qu'une splénectomie à ce moment soit compatible avec une relativement longue survie de l'animal (9-18 jours) ; au stade de crise (stade III), ils assurent la chute de la parasitémie malgré l'absence de rate. Mais ces facteurs se sont-ils produits, avant la splénectomie, sous une influence directe de la rate, ou celle-ci n'a-t-elle qu'un rôle adjuvant : c'est ce que l'on ne peut savoir par ces expériences de splénectomie à divers stades.

Il convient enfin de signaler l'allure irrégulière de la parasitémie chez ces animaux splénectomisés, qui décrit une courbe en « dents de scie », ce que l'on n'observe pas chez le rat intact. Nous en avons déjà rapporté un exemple à propos de l'immunité naturelle.

II. — Rôle de la rate dans la conservation de l'immunité acquise : la splénectomie chez l'animal immun ou hyperimmun.

L'animal guéri de sa primo-infection est à l'abri des rechutes spontanées et résiste aux réinoculations. Nous avons cherché quel est le rôle dévolu à la rate dans ces deux phénomènes immunitaires. Pour cela, nous avons recherché la réapparition de la parasitémie après splénectomie chez l'animal immun ou hyperimmun et l'influence des réinoculations d'hématozoaires, chez ces mêmes animaux, dans leurs rapports avec la splénectomie.

A. — Première série d'expériences : splénectomie chez les animaux immuns et hyperimmuns.

Paragraphe I. — Splénectomie chez le rat immun.

La splénectomie est un moyen habituel pour provoquer des rechutes dans les divers paludismes. La rate a été enlevée chez 51 de nos animaux guéris de la primo-infection (rats « immuns »). 43 ont présenté un réveil de paludisme après un temps de latence variable ; chez 8 il n'y a eu aucune réapparition microscopiquement décelable de parasites dans le sang. Parmi les 43 rats qui eurent une reprise de leur parasitémie, 23 sont morts en quelques jours; 15 ont vu la maladie passer à la chronicité ou ont guéri : 5 ont été sacrifiés au cours de leur réveil du paludisme.

a) *Influence, sur le réveil de l'infection, du délai qui a séparé la splénectomie de la fin de la primo-infection.*

Nos animaux ont été splénectomisés à des temps variables après disparition de leur parasitémie. On fait les constatations suivantes sur le nombre des rechutes et l'évolution de la rechute :

1. *Rechutes :* lorsque l'intervalle, entre la guérison parasitémique et la splénectomie, était plus petit que 30 jours, tous nos animaux (42 sur 42) ont présenté une rechute ; avec un intervalle supérieur à 30 jours, il n'y a eu de réveil du paludisme que chez un rat sur 9.

2. *Evolution de la rechute :* avec un intervalle inférieur à 20 jours, il y avait deux fois plus de rechutes mortelles que d'infections chroniques ; quand l'intervalle était supérieur à 20 jours, on ne constatait pas de décès (le S 84 a été sacrifié), comme si les facteurs de résistance acquise indépendants de la rate avaient augmenté pendant ces trois semaines.

REVEIL			PAS DE REVEIL
mortel		passant à la chronicité ou à la guérison	
52 (2)	29 (12)	S 141 (6)	Néant
L 58 (3)	58 (12)	S 142 (6)	
L 82 (3)	L 5 (13)	210 G (7)	
231 (4)	31 (14)	L 61 (7)	
355 (7)	L 4 (14)	51 (10)	
R 1 (8)	43 (15)	387 (10)	
L 46 (8)	50 (15)	S 172 (10)	
388 (9)	204 (15)	204 G (13)	
54 (10)	L 64 (17)	S 135 (17)	
382 (10)	L 65 (17)	L 66 (17)	
L 91 (10)	26 (19)		
24 (11)			

Splénectomie moins de 20 jours après guérison de la primo-infection. (Le nombre de jours écoulés entre la guérison de la primo-infection et la splénectomie, est indiqué entre parenthèses).

REVEIL		PAS DE REVEIL
mortel	passant à la chronicité ou à la guérison	
Néant	S 187 (22)	S 5 (30)
	L 36 (23)	S 14 (30)
	S 83 (26)	S 12 (30)
	207 (29)	210 (30)
	S 104 (47)	209 (33)
		84 (50)
		205 (80)
		161 (5 mois)

Splénectomie plus de 20 jours après guérison de la primo-infection.

Le délai de 30 jours après guérison de la primo-infection, à partir duquel nous ne notons presque plus de réveil (un réveil sur 9 animaux), correspond assez bien aux constatations d'autres chercheurs. A. Coradetti, sur 13 animaux (dont 12 avaient été splénectomisés après un intervalle égal ou supérieur à 45 jours, et 1 après 28 jours), n'a observé aucune réapparition de parasitémie et l'examen des frottis a été effectué chaque jour jusqu'à la mort de l'animal, ce qui a représenté pour certains rats jusqu'à 245 examens au cours desquels aucun parasite n'a jamais été décelé [18]. Black prend comme point de référence le jour de l'inoculation ; ses animaux d'expérience ne présentent plus de reprise de l'infection quand la splénectomie est réalisée après 52 jours ; or, puisque la durée de la primo-infection est de 15 à 20 jours, on voit que le chiffre donné par cet auteur est proche de ce que nous rapportons nous-mêmes ici [4].

b) *Rapports entre la rapidité d'apparition de la rechute après splénectomie et le délai qui sépare la splénectomie de la guérison.*

Il n'y a pas de rapport entre le temps de latence et la durée écoulée depuis la guérison.

Délai (*)	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Jours de latence après splénectomie	3	1 à 9	1	2	3 à 5	2 à 8	2 à 4	5	1 à 7	9	4 à 6
Nombre de rats	1	4	1	1	2	3	2	1	6	1	2

Délai (*)	13	14	15	17	19	22	23	26	29	47
Jours de latence après splénectomie	4 à 7	2	3 à 5	2 à 7	4	6	1	5 à 8	10	3
Nombre de rats	2	2	3	5	1	1	1	2	1	1

(*) Délai (en jours) entre guérison primo-infection et splénectomie.

Le temps de latence a été de 10 jours au maximum ; dans la majorité des cas il est plus petit que 7 jours.

Jours de latence après splénectomie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nombre de rats	4	9	5	7	5	3	4	3	2	1

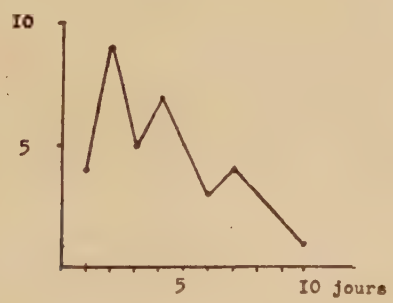


Fig. IV. — Temps de latence dans le cas de réveil après splénectomie chez l'animal immun.

En abcisse : temps de latence (en jours) entre splénectomie et réveil de la parasitémie.

En ordonnées : nombre d'animaux.

c) *Aspect particulier de la courbe parasitémique de rechute.*

Chez le rat neuf, splénectomisé ou non, l'ascension de la parasitémie jusqu'à un maximum, après injection infectante, se fait dans un délai de plusieurs jours ; nous avons montré que cette lenteur d'ascension, — bien mise en évidence par le « palier » lors d'une injection intrapéritonéale massive —, était due à l'augmentation seulement progressive des réticulocytes. Chez le rat splénectomisé après guérison de primo-infection, la parasitémie, après un temps de latence variable (1 à 10 jours chez nos rats guéris depuis moins d'un mois), monte progressivement à 1-2 p. 100 puis — si la rechute doit être forte — elle s'élève en un ou deux jours (donc très brusquement) à 10-40 p. 100 ; la tangente à la courbe, au moment de cette phase ascensionnelle, est donc plus grande que celle observée au cours de la primo-infection. Le rat prémuni et splénectomisé se comporte donc à ce moment comme s'il était devenu beaucoup plus réceptif à l'infection, ce qui est surprenant puisque chez l'animal neuf, même après ablation de la rate, l'infection est moins intense.

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours : 1	2	3	4	5	Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours : 1	2	3	4	5
24	5		60			S 83	0,2	1	12		
R 1	0,1		60			S 84	0,05		4	23	35
31	5		50	60		355	0,2			25	
50	0,1		20	20	25	26	5	50			
51	1		2	17		29	0,1		5	25	
54	1			20		382	0			13	35
204	0,1		10	25		388	0,6	20			
207	5			35		L 5	2	20			
231	0,1	2	20			L 58	0,2		5	20	
S 30	0,1		12			L 61	1	12			
S 136	0,1		5		40	L 46	1	12			
S 141	3	13				S 135	1	10			

Le jour marqué 1 est un jour arbitrairement choisi, alors que la parasitémie ne s'est pas encore beaucoup élevée. Ce tableau a pour but de montrer l'ascension rapide de la parasitémie en 24 ou 48 heures à son maximum. Le dernier chiffre est le taux maxima de la parasitémie.

Cette forte ascension de la parasitémie n'est cependant pas constante : parfois le taux des globules rouges parasités reste faible.

Notons une particularité : dans les jours qui suivent immédiatement la splénectomie, il peut y avoir apparition de rares hématozoaires sur la lame de sang (1 p. 1.000 - 1 p. 5.000) ; puis tout se négative jusqu'à la rechute proprement dite quelques jours plus tard.

Lorsqu'elle a atteint son maximum, la parasitémie décroît le plus souvent rapidement, aussi vite qu'elle s'est élevée (courbe en clocher aigu). Il arrive aussi que la parasitémie ait une évolution irrégulière, au cours de la rechute qui suit l'ablation de la rate : après une ascension rapide, la parasitémie baisse, puis augmente à nouveau pour baisser encore ; il peut y avoir ainsi 1, 2 ou 3 reprises de l'infection, mais sans rémission complète : la courbe présente un aspect « en dents de scie » ; nous avons déjà signalé cette parasitémie oscillante chez le rat splénectomisé avant l'impaludation ou dans le cours de la primo-infection.

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR)										
aux jours :	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
54	0	0	0	1		20		10	5		3
388	0	0	0		0,6	20	12	8	40		

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR)									
aux jours :	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
54		0,1		20			10			7
388										

Lorsque la rechute post-splénectomique se termine par la mort, cette dernière ce produit soit lors de l'ascension, soit lors du déclin de la parasitémie. Dans les autres cas, survient la disparition des hématozoaires du frottis sanguin ou bien l'infection persiste à l'état chronique.

Il nous faut donner ici une brève description de l'infection chronique du rat, si particulière à l'animal splénectomisé ; cette description est valable non seulement pour les animaux que nous venons de citer, mais aussi pour ceux que nous étudierons dans les pages qui suivent, en ce même chapitre sur la rate.

a) Il ne s'agit pas d'une infection qui passerait par des alternatives de latence complète et de reprises *importantes* de la parasitémie ; elle ne ressemble donc aucunement aux recrudescences ou aux rechutes, telles qu'on les voit par exemple dans les paludismes humains.

b) Il ne s'agit pas non plus de cette évolution irrégulière d'une forte parasitémie qui donne parfois à la courbe parasitémique du rat splénectomisé un aspect oscillant, aspect si différent de l'allure régulièrement montante puis descendante de la primo-infection, et qui se termine par la mort (le plus souvent) ou par passage à la chronicité.

c) Il s'agit d'une parasitémie continue, persistant pendant plusieurs semaines faible et irrégulière : faible parce qu'elle n'atteint que rarement le taux de 1 ou 2 p. 100 ; le plus souvent elle oscille de 1 p. 2.000 à 1 p. 200. Parfois pendant un jour ou deux on ne voit plus d'hématozoaires, puis ils réapparaissent, toujours à un taux très faible. Exemple :

Rat S 119										
Jours :	1	2	5	7	9	12	17	21	34	37
GRP (pour 100 GR)	1	4	0,3	1	2	0,5	0,2	0,2	0,01	0,1

Rat S 119								
Jours :	46	139	142	143	144	146	150	etc.
GRP (pour 100 GR)	0,5	0,1	0,1	0,05	0,05	0	0,1	etc.

Cette infection chronique est compatible avec une très longue survie (par exemple, le rat S 102 montrait encore 2 globules rouges parasités pour 10.000 globules rouges après 4 mois) ; pratiquement nous considérons comme chronique toute infection à bas bruit qui dure plus de 10-15 jours.

Elle peut être chronique d'emblée ou, plus souvent, succéder à une rechute aiguë et sévère qui ne se termine pas par la disparition complète de la parasitémie : quand il n'y a plus que 1 p. 100, 1. p. 1.000 de globules rouges parasités, l'infection, au lieu de s'arrêter, persiste.

La chronicité peut durer indéfiniment ou être suivie de la disparition d'une parasitémie microscopiquement décelable. Peut-on affirmer la guérison totale après infection chronique ? Il faudrait examiner quotidiennement le sang, ce que nous n'avons point fait, et ce qui d'ailleurs pourrait influer sur le cours de la maladie par l'anémie que provoquent ces prises de sang répétées ; par elles seules, ces saignées pourraient empêcher l'apparition de la guérison. Aussi nous sommes-nous contentés de n'effectuer les contrôles du sang qu'à de très rares intervalles ; et le plus souvent on ne constatait plus de parasitémie visible. Il est donc vraisemblable qu'il y a eu alors guérison de l'infection chronique.

d) *Rapport entre la parasitémie et la réticulocytose.*

Chez 16 animaux, en même temps que le degré de parasitémie, on a recherché le pourcentage de réticulocytes au cours de la rechute.

Pendant le temps de latence, qui est plus ou moins long selon les animaux, il n'y a rien de particulier à noter, si ce n'est en

général le lendemain de la splénectomie une diminution de la réticulocytose sanguine. Le taux des réticulocytes s'élève ensuite et, au moment de l'ascension rapide de la parasitémie que nous venons de signaler chez ces rats splénectomisés, il y a de nombreux réticulocytes et ils sont presque tous parasités. Il est à souligner que la parasitémie reste en rapport avec le taux de la réticulocytose, ne la dépassant guère et la suivant de près ; ce sont donc ces globules rouges immatures qui sont électivement parasités. En fin d'évolution, la dissociation entre réticulocytes et globules rouges parasités (c'est-à-dire le fait que de nombreux réticulocytes ne sont plus parasités) est d'un bon pronostic : elle indique le passage à la chronicité ou à la guérison : par contre, la chute des réticulocytes en même temps que celle de la parasitémie (tous les réticulocytes sont parasités) est d'un mauvais pronostic : la mort va survenir.

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours :					
	1	2	3	4	5	6
L 4	0,05 (4)	3 (2,5)	2 (1,5)	2 (3)	4,5 (5)	3 (8)
S 172	0 (10)	0	0 (12)		4 (15)	10 (8)
382		0 (2)				0,01 (7)
388						0,6 (10)
L 5	0 (3)			0 (2)		
L 57	0 (4)	0,1 (10)	4 (6)	15 (20)	20 (20)	20 (20)
L 58	0,02 (8)	0,2 (5)		5 (5)	20 (2) (θ)	
L 61	(6)	0,1 (7)	1 (6)	12 (12)		8 (2)
L 46	0 (5)	0,1 (8)	1 (6)	12 (10)	2 (1) (θ)	
387	0,1 (5)			5 (7)	15 (18)	6 (10)
L 36	0,2 (1)	1 (1)		2 (2)	1 (5)	0,2 (20)

Rat	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours :					
	7	8	9	10	11	13
L 4	0,03 (20)					
S 172		5 (6)		1,02		
382	0,01 (15)	0,1 (30)			35 (18)	θ
388	20 (28)	12 (10)	8 (12)	40 (42)	θ	
L 5	0,01 (10)	0,1 (10)	2 (30)	20 (18)	5 (5) (θ)	
L 57	8 (12)					
L 58						
L 61	4 (5)					
L 46						
387	0,5 (20)					
L 36						

Le jour 1 = lendemain de la splénectomie.

On peut interpréter ces résultats de la manière suivante : le temps de latence correspond à la persistance de l'immunité ;

puis la réapparition des hématozoaires dans le sang et l'augmentation de la réticulocytose correspondent à un fléchissement simultané de l'immunité acquise et de l'immunité naturelle ; enfin la « dissociation » des deux courbes de réticulocytes et de globules rouges parasités, en fin d'évolution, indique le réveil d'une immunité acquise importante.

C'est donc la réticulocytose augmentée qui explique cette ascension si brusque de la parasitémie chez le rat rechutant après splénectomie. Ceci explique l'ascension rapide que nous avions observée, — alors que nous n'étudions pas encore la réticulocytose —, lorsque la splénectomie entraîne le réveil d'une bartonellose latente ; ce dernier survient avant la réapparition des hématozoaires ; or il provoque, par l'anémie intense qu'il cause, une réaction de la moelle qui lance dans la circulation des hématies immatures (fléchissement de l'immunité naturelle) : celles-ci offrent un terrain de choix pour le parasite dès que l'immunité acquise aura fléchi : d'où montée parasitémique brutale.

Rat	Parasitémie (GRP pour 100 GR) aux jours : (jour 1 = lendemain de la splénectomie)					
	1	2	3	4	5	6
R 1	0	0	0	0	0,1	
204	0	0	0	0	0	+ (Bart++)
S 30	0	0	0	0	0,1 (Bart++)	
29	0	0	0	0	0,2 (Bart+++)	0,1 (Bart++++)

Rat	Parasitémie (GRP pour 100 GR) aux jours : (jour 1 = lendemain de la splénectomie)			
	7	8	9	10
R 1		0,1 (Bart+++++)		60
204	0,1	10	25 (Bart+)	
S 30	12			
29	5 (Bart+)	25		

Paragraphe II.

Splénectomie chez le Rat hyperimmun.

Nous rapportons ici les résultats observés après ablation de la rate chez des animaux qui, guéris de leur primo-infection, avaient reçu une ou plusieurs réinjections d'hématozoaires. Il s'agit de 18 rats ; un (S 90) a été sacrifié au cours de l'évolution qui a suivi la splénectomie.

a) *Evolution après splénectomie.*

— Animaux n'ayant reçu, en réinjection intrapéritonéale, que des doses faibles de globules rouges parasités (8 rats).

REVEIL						PAS DE REVEIL		
mortel			infect. chron. ou guér.					
Rat	Nombre d'IP	Jours entre dern. IP et splén.	Rat	Nombre d'IP	Jours entre dern. IP et splén.	Rat	Nombre d'IP	Jours entre dern. IP et splén.
4	3	14	6	1	16	1	2	16
7	1	21				9	1	21
11	1	11						
25	1	9						
122	1	14						

— Animaux ayant reçu, en réinjection, de fortes quantités d'hématies parasitées (10 rats).

REVEIL						PAS DE REVEIL		
mortel			infect. chron. ou guér.					
Rat	Nombre d'IPM	Jours entre dern. IPM et splén.	Rat	Nombre d'IPM	Jours entre dern. IPM et splén.	Rat	Nombre d'IPM	Jours entre dern. IPM et splén.
170	1	13	213 G	1	4	S 102	5	5
S 89	4	3	350	2	4	S 118	5	5
			S 101	5	5	S 78	3	20
			S 122	5	5			
			S 119	1	1			

Le rat S 90 (immunité renforcée par 4 IPM, splénectomie 3 jours après la dernière IPM) a présenté un réveil après un temps de latence de 14 jours ; on n'a pas laissé évoluer l'animal.

b) *Temps de latence après splénectomie.*

Chez les animaux qui n'avaient reçu que des réinoculations à faibles doses ou 1 à 2 injections péritonéales massives, le temps de latence a été comparable à celui observé chez les simples immuns.

Par contre, les rats qui avaient reçu 4 ou 5 injections péritonéales massives ont eu un temps de latence beaucoup plus long que celui que l'on observe chez les immuns.

Rats	S 89	S 101	S 122	S 90
Jours écoulés entre dernière IPM et splén.	3	5	5	3
Jours de latence	9	15	28	14

c) *Absence de réveil et délai entre la dernière injection et la splénectomie.*

Alors que chez l'immun l'absence de rechute n'existe qu'après un délai égal à ou plus grand que 30 jours, l'absence de rechute chez l'hyperimmun se voit même chez des animaux dont la dernière injection infectante remonte à 5 jours.

d) *Aspect de la courbe de parasitémie.*

Comme chez le prémuni splénectomisé, on a souvent l'ascension rapide de la courbe de parasitémie (et dans ce cas la mort survient le plus souvent) :

Rats	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours :			
	1	2	3	4
4	+		60	
6	+			20
7	0,1		50	
11	1		40	
122	+		10	
170	+	20		
S 89	1		25	

Dans ce tableau, le jour « 1 » est un jour arbitrairement choisi, où la parasitémie est encore basse.

Cette ascension brutale semble en rapport avec la présence d'un grand nombre d'hématies polychromatophiles car il y avait eu, chez les animaux cités, apparition de Bartonelles en grand nombre les jours précédents.

Paragraphe III. — Splénectomie au cours de la parasitémie provoquée par une épreuve d'immunité.

Parmi les animaux mentionnés dans le paragraphe précédent, 4 rats présentent une particularité en ce qui concerne les circonstances de leur splénectomie. C'étaient des animaux immuns ou hyperimmuns, dont on venait de renforcer l'immunité par injection intrapéritonéale d'une forte quantité de globules rouges parasités (IPM) suivant la technique indiquée dans un chapitre précédent. Alors que la brève parasitémie ainsi provoquée était sur le point de disparaître (le lendemain ou n'aurait plus déceler d'hématozoaires sur la lame de sang), nous avons splénectomisé ces animaux et avons suivi l'évolution de la parasitémie ainsi que, chez trois d'entre eux, de la réticulocytose. Cette dernière, comme on en peut juger par le tableau ci-dessous, atteignit des taux très élevés. La parasitémie, par contre, est restée faible.

Rats	Etat immunitaire avant l'IPM qui a précédé la splénectomie	Jours, comptés à partir de la splénectomie (j. 1 = j. splén.)	GRP pour 100 GR	Réticulocytes p. 100 GR
213 G	immun	1	0,03	
		3	0,2	
		4	0,5	5
		5	2	8
		6	0,1	35
350	hyperimmun	1	0,4	20
		2	0	30
		3	0	20
		4	0,02	
		5	0,02	
		6	+	15
		7	0	20
		50	0,5	5
94 b	hyperimmun	1	0,01	
		3	0,3	5
		5	2	30
		6	2	35
		7	0,1	30

Nous n'avons pas examiné la réticulocytose chez le S 119, animal immun, splénectomisé le lendemain de l'IPM de renforcement ; mais, comme chez les trois animaux précédents, la parasitémie est demeurée faible, présentant durant un temps très long (plus de 150 jours) le tableau de l'infection chronique.

Cette absence d'un haut degré de parasitémie (en dépit de la présence d'un grand nombre d'hématies jeunes réceptives chez trois animaux), est à attribuer sans doute à la persistance d'une forte immunité acquise, qui venait d'être renforcée par l'injection péritonéale massive.

B. — Deuxième série d'expériences : influence d'une réinoculation chez l'animal (immun ou hyperimmun) splénectomisé.

Pour étudier dans d'autres conditions expérimentales le rôle de la rate dans la défense contre les hématozoaires et le fléchissement de l'immunité acquise que peut provoquer l'ablation de cet organe, nous avons encore eu recours à la splénectomie et aux épreuves d'immunité, mais en les associant. Nous avons ainsi pratiqué des injections intrapéritonéales massives, chez des rats immuns et splénectomisés, dans les éventualités suivantes :

— la splénectomie précède immédiatement l'épreuve d'immunité ;

— la splénectomie est plus ancienne : le rat n'a pas présenté de rechute, ou bien a eu une rechute dont il a guéri.

Les résultats de ces réinoculations de rats immuns puis splénectomisés confirment les conclusions des recherches exposées dans les chapitres précédents ; ils ont de plus l'avantage de révéler des faits nouveaux et de faciliter l'étude de l'infection chronique.

Paragraphe I. — Inoculation intrapéritonéale massive le jour ou le lendemain de la splénectomie.

Vingt animaux ont été réinoculés à doses fortes quelques heures après la splénectomie et deux (180, 159) le lendemain de la splénectomie. Il n'y a évidemment pas de temps de latence : dès les premières heures qui suivent l'injection, les parasites apparaissent dans le sang.

a) *Mortalité chez ces animaux.*

Evolutions mortelles				Passages à la chronicité		
S 21	2 IPM	14		S 41	0	13
S 20	2 IPM	14		247	0	14
S 16	2 IPM	7		S 168	0	30
S 36	0	20		159	2 IPM	3
S 133	0	0		78	2 IPM, 1 IP	19
301	0	100		183	0	4 mois
S 161	0	1		174	0	5 mois
364	0	26		157	0	10
381	0	4				
180	0	8				
200	0	100				
233	0	80				
385	0	28				
S 36	0	20				

Dans ces deux tableaux, la première colonne verticale indique le N° du rat, le 2e le nombre de réinjections infectantes auxquelles a été soumis le rat entre la guérison de sa primo-infection et la splénectomie, la 3e le nombre de jours écoulés entre la dernière injection d'hématozoaires (chez les hyperimmuns) ou la guérison de la primo-infection d'une part et d'autre part la splénectomie.

b) *Influence du délai* qui s'est écoulé entre la guérison de la primo-infection (ou la dernière réinoculation) et la splénectomie. Comme on le voit d'après le tableau précédent, la grandeur de ce laps de temps n'exerce aucune influence sur le caractère mortel, curable ou chronique de la réinoculation.

c) *Aspect de la courbe de parasitémie.*

La courbe est différente de celle que l'on obtient chez l'animal immun ou hyperimmun non splénectomisé, puisque chez eux la réinoculation de doses fortes ne provoque qu'une faible parasitémie, parfois même il n'y a pas de passage de globules rouges parasités dans le sang.

L'évolution de la parasitémie est différente aussi de celle que l'on observe chez l'animal neuf primo-infecté à doses massives après splénectomie. En effet :

— Ou l'on a une parasitémie faible pendant les premiers jours, bien différente du plateau à 2-3 p. 100 du rat neuf splénectomisé, — ce qui traduit l'effet de l'immunité acquise —, puis rechute comme s'il n'y avait eu qu'une simple splénectomie chez un animal en l'état d'infection latente.

Rats	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours :									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
310 (immun)	0		0,02		0,02	1		25	40	15
S 20 (hyperimmun)	2	0,5	0,1	0			15	30		
S 133 (immun)	0,01	0,1	0,1	4		15	8			
364	0,05	0,05	9	8						

— Ou la parasitémie s'élève rapidement, atteint un taux maximum après 2 ou 3 jours, puis s'abaisse ; cette évolution a duré 5 ou 6 jours et l'infection passe alors à la chronicité ou, plus rarement, l'animal meurt.

Rats	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours :												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
174	2	3	4	2	1	1			1				0,1
183	2	4	5	2		0,5			1		0,05		
157		7	3	0,6	0,1		0,5						
200	3	10	12	4	1		0,2 θ						
233	5	4	7	5	4	1 (θ)							
14	0	12	5	5	5	0,05	0,2						
S 36	6	10	12	2	0,5	2	0,5	0,5	1	1			

Chez l'animal neuf splénectomisé avant impaludation, le maximum de parasitémie n'est jamais atteint dans un si bref espace de temps.

— Ou enfin le pourcentage des globules rouges parasités s'élève rapidement, comme dans le cas précédent, mais l'infection a ensuite une allure irrégulière, phénomène que l'on voit chez l'animal immun ou hyperimmun dont la parasitémie se réveille sous l'action de la splénectomie, et jamais (ou presque) au cours de la primo-infection.

Rats	Parasitémie (GRP p. 100 GR) au jours :													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
S 14	7	15	10	2	2	2	8		1	0,1	3	10	1	0,2
S 21	4	1,5	5	10	6	10	10	20		10	13			

d) *Rapports de la parasitémie avec la réticulocytose.*

Chez plusieurs animaux nous avons suivi, en même temps que la parasitémie, le taux de la réticulocytose. On a observé que :

— pendant les premiers jours, ou bien la parasitémie atteint le chiffre de la réticulocytose (vg. rat S 161) : il y a donc eu par splénectomie une chute totale de l'immunité acquise ; ou bien la parasitémie reste nettement inférieure au taux de la réticulocytose (vg. 301, 364) : il y a donc persistance d'une immunité malgré l'ablation de la rate ;

— puis la parasitémie suit le taux de la réticulocytose ;

— et très vite, ou bien la parasitémie continue à suivre le taux de la réticulocytose : alors la mort survient rapidement (S 161, 301, 364) ; ou bien apparaît une dissociation entre les deux, la parasitémie baissant alors que la réticulocytose reste assez élevée : c'est l'acheminement vers la chronicité ou la guérison, l'immunité acquise s'est réveillée, renforcée (S 168).

Rats	Parasitémie (GRP p. 100 GR) et Rét. p. 100 GR (entre parenthèses) aux jours :			
	1	2	3	4
364	0,05 (15)	0,02 (15)	9 (15)	8 (15)
301	0 (6)	0,01 (10)		0,01 (8)
S 161	1 (8)	6 (8)	6 (4)	8 (12)
S 167	0,1 (10)	0,2 (4)		6 (4)

Rats	Parasitémie (GRP p. 100 GR) et Rét. p. 100 GR (entre parenthèses) aux jours :				
	5	6	7	8	9
364	8 (3)				
301	1 (20)		25 (28)	40 (30)	15 (10)
S 161	10 (15)	6 (10)			
S 168	6 (4)		0,1		0,1 (50)

e) *Le maximum de la parasitémie* est presque toujours très inférieur à celui qui est généralement atteint lors du réveil, par splénectomie, d'une infection latente.

Rats	Max. de parasit.	Rats	Max. de parasit.	Rats	Max. de parasit.
S 21	20	S 123	5	381	8
S 36	3	S 133	15	200	10
S 41	15	247	12	233	7
S 46	5	S 161	10	183	5
S 119	4	S 168	6	174	4
S 120	7	364	9	157	7

f) *Autres différences avec la primo-infection :*

— Différence avec la primo-infection du rat non splénectomisé : chez celui-ci on n'a jamais de passage à la chronicité. Chez l'immun ou l'hyperimmun splénectomisé, on a souvent une infection traînant indéfiniment en longueur, à la limite de la visibilité microscopique.

— Différence avec la primo-infection du rat splénectomisé : alors que ce dernier présente toujours une évolution mortelle, la réimpaludation faite le jour même ou le lendemain de la splénectomie n'est pas toujours mortelle.

g La réinoculation contemporaine de la splénectomie chez l'immun ou l'hyperimmun détermine une parasitémie immédiate. Dans tous les cas où, à la suite de cette injection massive, il y a eu immédiatement infection marquée pendant quelques jours, la rechute qui suit habituellement la splénectomie ne se produit pas. La brève infection empêche, prévient la rechute qui, sans cette inoculation massive et son évolution immédiate, serait apparue quelques jours plus tard avec ses caractères habituels : brusquerie, intensité, évolution très rapide.

Par contre, quand, pour des raisons que nous ne connaissons pas, il n'y a pas élévation rapide de la parasitémie après l'injection, l'infection prend l'aspect habituel de la rechute post-splénectomie (exemples : 301, S 20, S 133 supra). Dans le cas précédent, on peut penser que ces hématozoaires de réinoculation s'étant multipliés ont réveillé et renforcé l'immunité acquise, ce qui explique que les hématozoaires latents aient trouvé alors des moyens de défense qui les ont empêchés de se multiplier à leur tour.

Paragraphe II. — Réinoculation intrapéritonéale chez des rats immuns splénectomisés depuis longtemps.

Une injection intrapéritonéale a été faite chez des rats immuns splénectomisés depuis un temps variant de 13 jours à 4 mois. Ces animaux ou bien n'avaient pas présenté de rechute, ou en avaient guéri, ou évoluaient sur le mode chronique.

a *Réinoculation d'animaux n'ayant pas présenté de réveil après splénectomie.*

Trois rats qui n'avaient pas eu de réveil par splénectomie ont été réinoculés. Les résultats ont été les suivants :

Rat 161 : splénectomisé le 20 décembre. Pas de réveil. Le 12 juillet (Plasmodium = 0). IPM de 300 millions de GRP. On obtient une infection chronique.

Le 13 juillet	GRP (p. 100 GR)	= 2
14	—	2
15	—	1
17	—	1
19	—	1

Rat 9 : splénectomisé le 23 janvier. Le 14 février, réinoculation intrapéritonéale à faible dose.

21 février	+	1er mars	0
23	20 %	2	0,5
26	5	5	1
28	0	7	1

Suivi tous les 2 jours jusqu'au 13 mars, montre une parasitémie oscillant entre 0 et 1 % : c'est donc le type de l'infection chronique. Meurt le 25 juin : la lame de sang examinée au microscope ne montre pas de parasites.

Rat 1 : splénectomisé le 18 janvier. Réinoculé à faible dose le 14 février.

16 février	0,2 %	23	+
19	20	26	0
21	5	27	surrénalectomisé

b) *Réinoculations d'animaux qui, après réveil de leur parasitémie par splénectomie, présentent une infection chronique ou ont guéri.*

Quinze de ces animaux ont été ainsi réinoculés. L'injection péritonéale n'influe pas sur la parasitémie de l'animal qui évolue sur le mode chronique : elle réveille une très faible parasitémie, souvent très transitoire, chez le rat qui a guéri complètement de la rechute après splénectomie.

Rats	Intervalle entre spléné. et réinoculation	Nature de la réinoculation	G R P (p 100 GR) et rét. (entre parenthèses au jour réino-culation	Evolution ultérieure de la parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours : 1	2	3	4	5	6	7	8	9
159	5 mois	IPM	0	0,03	0,2	0						
S 83	4 mois	IPM	0 (10)	0,1	0							
S 101	4 mois	IPM	0 (2)	0,5	2	0,5		1		0,5		
S 122	4 mois	IPM	0 (10)	0,1	0							
S 168	4 mois	IPM	0	0,5	0,1					0,5		
S 172	3 mois	IPM	0 (20)	0,2	0,01							
S 187	2 mois	IPM	0 (2)	0,5	0,1					0		
387	2 mois	IPM	0 (2)	0,2	0							
6	27 jours	IP	0		0		0			+		0,5
247	12 jours	IPM	(30)	0,2		0,1			2	0,05		
S 102	4 mois	IPM	0,02 (3)	0,1	0,1							
350	1 m. 1/2	IPM	0,5 (5)	0,1	0,05							
L 36	25 jours	IPM	0,1 (10)	1	1	0,5		0,5		0,5		

Les rats 174 et 183, non mentionnés dans ce tableau, splénectomisés les 18 et 20 décembre, et qui avaient une infection chronique, ont supporté en janvier 3 IPM et une injection intracardiaque (l'injection intracardiaque avait pour but de s'assurer que ce n'était pas un facteur péritonéal qui s'était opposé au passage dans la circulation des hématies parasitées introduites dans le péritoine), sans modification de leur courbe parasitémique, qui est restée toujours très basse.

Jours	2 janvier	3	4	5	6	7	9
Injections	IPM		ICM				IPM
Rat 174	0,2	0,3	0,2	0,5	1	0,1	
Rat 183	0,5	0,2	0,2	1	0,2	0,2	0,1

Jours	10	11	14	15	16	18	21
Injections				IPM			
Rat 174	0,05	0,05	0,1	0,05	0,05	2	2,5
Rat 183	0,2	0,05	0,03	0,02	0		0,1

Chez aucun de ces animaux, qui n'avaient pas présenté de réveil de l'infection ou avaient une parasitémie chronique, la réinoculation n'a produit d'évolution directement mortelle.

Le Rat qui n'a pas présenté de réveil montre une réceptivité un peu plus grande que celui infecté chroniquement, puisque chez les rats 1 et 9 on a vu une ascension à 20 %.

Même privés de rate depuis longtemps (10 de ces animaux étaient splénectomisés depuis plus d'un mois), ces rats manifestent donc une résistance très réelle à la surinfection, et cela en dépit d'une réticulocytose élevée.

A. Corradetti, chez trois animaux n'ayant pas présenté de réveil après splénectomie, observait aussi une reprise de la parasitémie ; celle-ci durait quatre semaines chez un rat puis était suivie d'une disparition microscopique des hématozoaires du sang ; elle persistait jusqu'à la mort chez les deux autres rats, soit 220 et 255 jours respectivement [18]).

Black constatait de même une reprise de l'infection, qu'il jugeait semblable à celle observée au cours des réveils par splénectomie [4].

III. — Commentaires sur la splénectomie.

Paragraphe I. — Les renseignements fournis par la simple splénectomie.

Les résultats de la splénectomie nous montrent que l'importance de la rate dans l'acquisition de l'immunité, irremplaçable les premiers jours, diminue à mesure que le temps s'écoule depuis l'impaludation première et aussi à mesure que l'immunité acquise est renforcée par des réinoculations massives.

1. *La splénectomie à des espaces de temps de plus en plus longs par rapport à la primo-inoculation.*

a) *Splénectomie AVANT impaludation.* Ici, pas d'acquisition d'une immunité appréciable. La mort survient constamment et même, fait curieux, malgré la mise en œuvre d'une thérapeutique antimalarique.

b) *Splénectomie AU COURS de la primo-infection.* Ici aussi pas de guérison. Mais cependant l'ablation de la rate permet de mettre en évidence les premières ébauches d'immunité acquise (sans que l'on puisse décider si cette immunité naissante se forme sous l'influence de la rate ou si celle-ci n'a qu'un rôle adjuvant en aidant par sa phagocytose la disparition du parasite touché, par exemple, par des anticorps).

La splénectomie aux stades I et II provoque les mêmes résultats que la splénectomie avant impaludation ; la courbe de para-

sitémie y est la même ; la même aussi est sa durée. On n'observe donc aucun phénomène d'immunité acquise nettement appréciable durant ces premiers jours de l'infection. Mais aux stades suivants déjà commence à se manifester une immunité indépendante de la rate.

En effet, au stade III cette immunité est assez marquée pour que, malgré la splénectomie faite à ce moment, la courbe de parasitémie fasse sa chute comme chez le Rat non splénectomisé : sans doute, la mort s'ensuivra, ce qui montre le rôle encore irremplaçable de la rate à cette période de l'infection, mais il a fallu la présence d'autres facteurs immunologiques que la rate pour assurer cette diminution des hématozoaires.

Au stade IV, ces facteurs immunitaires sont encore bien manifestés par la splénectomie. Sous l'influence de la privation de la rate, la parasitémie reprendra, mais elle va persister pendant un long temps, atteignant jusqu'à 15 jours, avant que la mort ne survienne et elle restera à un degré assez faible, malgré le très grand nombre de globules rouges immatures qui existent au stade IV et qui sont électivement et tous (ou presque tous) parasités lorsque l'immunité acquise n'entre pas en jeu.

Ainsi donc, à mesure que l'accès de primo-infection évolue, des facteurs immunologiques indépendants de la rate apparaissent ; ils n'auraient pu se former sans la présence de la rate ; mais ils vont rendre le rôle de la rate de moins en moins indispensable.

c) *Splénectomie APRES guérison de la primo-infection.* Là encore, la splénectomie va nous montrer un renforcement progressif, avec le temps, de ces facteurs extraspléniques :

— pendant les premiers jours qui suivent la disparition des hématozoaires, la splénectomie produit régulièrement un réveil de l'infection (réveil qui est précédé d'un temps de latence variable), mais ces rechutes ne sont plus forcément mortelles : il y a des passages à la chronicité, il y a des guérisons ;

— à partir du 20e jour après guérison de la primo-infection, les rechutes mortelles deviennent l'exception (nous n'en avons personnellement pas observé) ; l'animal guérit de sa rechute ou présente une parasitémie chronique ;

— trente jours après la fin de l'attaque primaire, les rechutes sont très rares.

2. *La splénectomie chez l'animal hyperimmun.*

Les réinoculations de doses massives de globules rouges parasités nous avaient permis de réaliser et de mettre en évidence un renforcement de l'immunité. Ces animaux devenaient « hyperimmuns ». La splénectomie de tels animaux (du moins pour ceux qui avaient reçu 4 ou 5 injections péritonéales massives) a mis en évidence un renforcement, chez eux, des facteurs immunologiques extra-spléniques. En effet, chez ces rats la splénectomie peut ne pas produire de réveil lorsque le laps de temps qui s'est écoulé entre la dernière réinoculation et la splénectomie est nettement inférieur à 20 jours, ou bien le réveil ne se produit qu'après un temps de latence de beaucoup supérieur à celui que l'on observe chez l'animal simplement immun.

Ainsi donc, la splénectomie nous permet de mettre en évidence que, dans les facteurs de l'immunité acquise, la rate voit son rôle, quoique toujours important, diminuer d'importance à mesure que les jours s'écoulent et à mesure que l'immunité est renforcée par des réinoculations.

Paragraphe II. — Les renseignements fournis par les réinoculations chez les animaux immunisés et splénectomisés.

La splénectomie met bien en évidence le rôle important joué par la rate dans la résistance aux réinoculations.

1. *Injection péritonéale massive LE JOUR (ou le lendemain) de la splénectomie.*

Alors que chez l'animal immun ou hyperimmun l'injection massive de parasites ne donne qu'une faible et brève parasitémie, la même injection massive faite le jour même de la splénectomie ou le lendemain (donc à un moment où la part d'immunité acquise indépendante de la rate n'a pas eu le temps de diminuer) provoque une reprise de la parasitémie qui s'étalera en longueur. Sans doute l'allure de la courbe parasitémique sera assez variable : le maximum de la parasitémie pourra être atteint dans les 3 ou 4 premiers jours (et il pourra s'élever jusqu'à 10 p. 100, donc assez haut), phénomène expliqué vraisemblablement par un fléchissement temporaire des facteurs de l'immunité acquise associé à une réceptivité spéciale du terrain (c'est-à-dire à une forte réticulocytose, en rapport probable avec l'anémie provoquée par l'infection latente) ; la parasitémie chez

d'autres animaux pourra au contraire demeurer à un taux bas. Mais, quoi qu'il en soit, l'essentiel est que la courbe de parasitémie est entièrement différente à la fois de celle que l'on observe chez l'immun réinoculé (fléchissement d'immunité) et de celle que l'on observe chez l'animal neuf splénectomisé et primo-infecté (existence d'une immunité acquise, indépendante de la rate).

2. *Injection péritonéale massive chez l'animal splénectomisé LONGTEMPS avant la réinoculation.*

Chez un tel animal, on observe une certaine résistance à la surinfection. Certes on ne peut parler de résistance absolue comme chez certains hyperimmuns ou splénectomisés, mais c'est néanmoins une résistance réelle puisque :

— chez l'animal en état d'infection chronique : la réinoculation ne provoque pas de réascension parasitémique appréciable ;

— chez l'animal qui n'a pas présenté de réveil : la réinoculation ne donne, après parfois un sommet parasitémique assez élevé, qu'une infection chronique évoluant à bas bruit ;

— chez l'animal qui a guéri de la rechute par splénectomie : après une reprise de la parasitémie sur un mode mineur, on constate souvent à nouveau, quelques jours plus tard, une disparition microscopique des hématozoaires.

Ainsi est mis en évidence un pouvoir de résistance indépendant de la rate.

A. Corradetti, de son côté, écrivait à propos d'animaux réinoculés après une splénectomie qui n'avait pas été suivie de rechute : « En l'absence de rate, la réinoculation détermine l'établissement d'une infection chronique avec positivité du sang périphérique jusqu'à 220-250 jours après la réinoculation : toutefois... le système réticuloendothélial des autres organes réussit à déterminer l'apparition d'une immunité acquise d'un degré suffisant quelquefois à vaincre l'infection, et au moins à empêcher que la réinoculation soit mortelle » [18].

Paragraphe III. — Les renseignements fournis par l'étude de la réticulocytose.

L'étude de la réticulocytose après splénectomie montre :

— le rôle du fléchissement du « terrain » : après splénectomie l'infection ne devient forte que si la réticulocytose est forte : de cette forte réticulocytose, les bartonelles sont souvent responsables ;

— la persistance d'une immunité, malgré la suppression de la rate, pendant de nombreux jours chez certains animaux : il s'agit de ces rats chez lesquels la réticulocytose est importante alors que la parasitémie reste faible, preuve de la persistance d'une forte immunité acquise ;

— le rétablissement d'une immunité lorsque, après une rechute sévère où la parasitémie a suivi le taux de la réticulocytose, la parasitémie redescend et reste basse malgré la présence de réticulocytes non parasités.

Comme nous l'écrivions avec G. Fabiani et J. Clausse [39], l'augmentation de la réticulocytose sanguine explique pour une grande part la réceptivité paradoxale que présente le Rat immunisé et splénectomisé : allure foudroyante de la rechute qui se produit après ablation de la rate, évolution d'une réinoculation massive qui aboutit à une parasitémie relativement élevée et durant plusieurs jours. Il y a dans ces cas baisse ou disparition temporaire de l'immunité acquise à cause de la splénectomie, mais il y a aussi une augmentation de la réceptivité naturelle par suite de l'élévation de la réticulocytose. Cette augmentation du nombre des réticulocytes sanguins est due à plusieurs causes : l'existence avant la splénectomie d'une réticulocytose élevée qu'entretient souvent l'infection latente, l'action d'une bartonellose dont le réveil provoqué par l'ablation de la rate se produit plus tôt que celui du paludisme, et enfin l'exagération possible de l'activité érythroblastique de la moelle qui n'est plus freinée par la rate. La splénectomie provoque donc un fléchissement simultané de l'immunité acquise et de l'immunité naturelle, mais, pour cette dernière, par un mécanisme différent : l'exaltation de la réticulocytose (réveil d'une bartonellose latente, suppression de l'inhibition médullaire). C'est ainsi que l'on peut comprendre que, malgré l'immunité acquise, le Rat guéri d'une infection première présente une réceptivité que ne montre pas au même degré le Rat neuf, car chez ce dernier aucun paludisme latent n'entretient une plus grande activité médullaire.

Paragraphe IV. — Les renseignements fournis par l'infection chronique.

Enfin un caractère tout à fait particulier à l'infection post-splénectomie est l'infection chronique. On ne la rencontre que chez l'animal splénectomisé, jamais dans d'autres circonstances.

Elle indique les limites, en quelque sorte la faiblesse de l'immunité lorsque la rate est absente. Capable de maintenir la parasitémie à un degré très bas, l'organisme éprouve les plus grandes difficultés, sans l'intervention de la rate, non seulement à détruire entièrement les hématozoaires présents mais à les conserver en un état de latence tel que le microscope ne puisse les déceler.

Elle correspond à l'infection chronique ou « developed » que décrivent les paludologues anglo-saxons dans l'évolution générale des infections palustres ; mais il s'agit alors d'une infection chronique consécutive à la phase aiguë de primo-infection chez l'animal ou l'Homme normal, et non pas splénectomisé.

En conclusion :

Alors que l'immunité ne peut s'acquérir en l'absence de la rate, elle peut persister sans cet organe. La présence de la rate est de nécessité absolue au cours de la primo-infection ; elle ne présente plus qu'une valeur relative ensuite.

Les splénectomies, effectuées dans les diverses conditions que nous avons indiquées, permet de suivre la constitution progressive de cette immunité « extra-splénique ». Elles semblent montrer qu'après guérison parasitémique de la primo-infection il faut un temps de trois semaines pour que l'immunité soit entièrement constituée, c'est-à-dire de façon telle que la splénectomie ne provoque plus de rechutes mortelles.

Peut-on affirmer la guérison d'un animal après rechute provoquée par splénectomie ? Guérison d'une parasitémie constatable au microscope : certainement. Guérison d'une parasitémie subpatente ou guérison absolue : on ne peut l'affirmer, car il aurait fallu faire des inoculations répétées à la Souris.

Rôle des surrénales

Paragraphe I. — Les expériences de surrénalectomie.

L'étude du rôle des glandes surrénales dans la conservation de l'immunité acquise est à peine ébauchée. Une publication de G. Fabiani, M. A. Izzo et P. Grellet mettait pour la première fois en évidence un aspect nouveau : la possibilité de rechute,

après ablation des surrénales, chez des animaux dont la parasitémie n'avait pas été réveillée par l'action de la splénectomie. Ce qui montrait que la splénectomie seule n'est pas un test suffisant pour juger de la disparition totale de l'hématozoaire [34].

Nous rapportons ici les résultats obtenus par surrénalectomie chez 13 animaux immuns.

Le réveil de l'infection par surrénalectomie a été observé dans trois circonstances :

— Rats immuns non splénectomisés.

— Rats immuns splénectomisés, mais n'ayant pas eu de réveil.

— Rats immuns ayant eu une infection aiguë après splénectomie et en ayant guéri.

a) *Rats immuns non splénectomisés.*

La surrénalectomie, chez trois rats immuns ou hyperimmuns depuis peu de temps, a provoqué une fois la reprise de la parasitémie.

Le premier, primo-infecté en janvier, réinoculé en mars, est surrénalectomisé en avril : la mort survient en 7 jours sans réveil.

Le second est surrénalectomisé une semaine après la fin de sa primo-infection : après 48 heures, présence de plasmodies dans le sang ; mort le troisième jour.

Le troisième rat (rat 33) a reçu une injection intrapéritonéale de renforcement 12 jours avant la surrénalectomie ; l'animal est maintenu en vie au moyen d'acétate de désoxycorticostérone, à la dose de 1 mgr. par jour ; pas de réveil en 14 jours. On fait alors une splénectomie : réveil 8 jours après la splénectomie : la parasitémie monte en 4 jours à 50 p. 100 et l'animal meurt avec ce taux d'hématozoaires. Chez cet animal, la rechute après ablation de la rate montre bien qu'il persistait des hématozoaires dans l'organisme et que la surrénalectomie à elle seule a eu une action insuffisante pour provoquer une reprise de la parasitémie.

La surrénalectomie produit donc parfois un fléchissement de l'immunité, mais de façon inconstante, moins régulière que la splénectomie.

D'ailleurs l'épreuve d'immunité pratiquée chez un rat immun et surrénalectomisé ne montre pas le fléchissement de l'immunité que l'on observe après ablation de la rate.

Rat 230, guéri de sa primo-infection. Une injection intrapéritonéale massive provoque une parasitémie pendant 48 heures. 6 jours après cette injection, on ôte les surrénales et, le lendemain de l'opération on injecte à nouveau dans le péritoine un inoculat riche en hématozoaires : le passage et le développement des parasites dure moins de 24 heures.

Chez ce rat 230, on a donc un tableau parasitémique entièrement différent de celui que l'on observait chez les animaux immuns qui recevaient une injection péritonéale massive le jour ou le lendemain de la splénectomie : alors l'infection s'étalait sur plusieurs jours. Le rat 230, privé de ses surrénales, réagit à la réinoculation comme n'importe quel animal immun non surrénalectomisé.

b) *Rats immuns splénectomisés mais n'ayant pas présenté de réveil après splénectomie.*

Sept animaux qui n'avaient pas présenté de réveil après splénectomie ont été surrénalectomisés. Chez certains d'entre eux, on a prolongé la survie par injection quotidienne de D.O.C.A. : en effet, la surrénalectomie entraîne la mort du rat dans un délai essentiellement variable (de 2 à 10 jours), — et donc parfois trop court pour juger de la possibilité d'un réveil —, si l'on n'injecte pas quoditiennement 1 mgr. d'acétate de désocycorticostérone.

Chez un seul de ces 7 rats il y eut réveil, réapparition des hématozoaires dans le sang.

	Pas de réveil après surr.	Réveil
Rats	Jours de survie du rat après surr.	Rat
93	11	209
84	13	
75	7	
205	5	
210	2	
S 12	6	

c) *Rats immuns ayant eu une infection aiguë après splénectomie et en ayant guéri.*

1. La surrénalectomie peut réveiller une parasitémie disparue après rechute provoquée par splénectomie (1 animal).

Rat 51 : splénectomie 11 jours après guérison parasitémique de sa primo-infection ; réveil de l'infection avec clocher à 16 p. 100 après 4 jours, puis disparition des hématozoaires après 25 jours. On enlève les surrénales 47 jours après la splénectomie : 2 jours plus tard le taux des gobules rouges parasités est de 1 p. 100, puis retombe à 0 après 8 jours ; le rat meurt, sans plasmodies dans le sang, 12 jours après la surrénalectomie.

2. La splénectomie n'a pas provoqué de rechute, mais une réinoculation donne une nouvelle infection dont le rat guérit. La surrénalectomie provoque une rechute (1 animal).

Rat 1 : immun, chez qui la splénectomie n'a provoqué aucune rechute ; le 27e jour après la splénectomie, on inocule des hématozoaires. Il y a, 2 jours plus tard, apparition d'une parasitémie qui atteint 20 p. 100 le 6e jour pour disparaître le 11e jour. On enlève les surrénales le 14e jour : mort 3 jours après avec 10 p. 100 de globules rouges parasités.

En conclusion : En l'absence de rate, la surrénalectomie peut donc parfois réveiller une infection latente ; la surrénalectomie seule peut rarement provoquer une rechute et ne diminue aucunement le pouvoir de résistance aux réinoculations.

Paragraphe II. — Action de la cortisone.

Dans des expériences encore inédites, G. Fabiani et M. A. Izzo ont étudié l'influence de la cortisone sur la parasitémie. Chaque injection de cortisone était de 5 mgr. pour 100 gr. de poids de l'animal ; elle était faite par la cavité intrapéritonéale.

a) *Première série d'expériences : la cortisone chez l'animal en fin d'infection ou immun.*

Quatre animaux guéris depuis moins d'un mois de leur primo-infection ont reçu quotidiennement une injection de cortisone, pendant 13 jours consécutifs chez l'un, pendant 11 jours chez les trois autres. Ils n'ont présenté aucun réveil de leur parasitémie.

Trois animaux en fin d'infection, c'est-à-dire au stade IV, ont été traités à ce moment par la cortisone : l'évolution normale de la parasitémie n'a été influencée que de façon très faible et transitoire ; la cortisone n'a pas empêché la disparition des hématozoaires du sang périphérique. Exemple : rat L 91 :

Jours comptés à partir du début du traitement par la cortisone	1	2	3	4	5
Parasitémie (GRP p. 100 GR)	0,01	0,1	0,1	0,01	0

c) *Deuxième série d'expériences : la cortisone chez l'animal en état d'infection chronique* après rechute par splénectomie (3 animaux).

Un rat, le L 61, splénectomisé depuis 16 jours, présente une parasitémie faible et continue. L'injection de cortisone provoque une ascension immédiate de la parasitémie : de 1 p. 5.000 le jour de l'injection, elle passe le lendemain à 1 p. 100 et à 3 p. 100 trois jours après.

Les deux autres rats étaient splénectomisés depuis un temps plus long : le S 119 depuis 5 mois, le S 141 depuis 4 mois. Contrairement aux résultats précédents, la cortisone ne provoque pas d'ascension de la courbe parasitémique, mais une disparition des hématozoaires ; cette disparition est temporaire chez le rat S 119 et définitive chez le rat S 141.

La cortisone a donc manifesté une action complexe ; sans influence, aux doses employées, chez l'animal en fin d'infection ou immun qui possède sa rate, elle peut chez l'immun splénectomisé en état d'infection chronique soit augmenter la parasitémie, soit la rendre latente de façon temporaire ou définitive.

Etude de l'action sur l'immunité de divers autres facteurs

1. *Blocage du système réticulo-endothélial par le bleu trypan chez l'animal en fin d'infection ou immun.*

L'influence de substances telles que l'encre de Chine a été étudiée dans d'autres paludismes, par exemple par W. Trager chez le poulet infecté avec *P. lophurae* [91], et le blocage du système réticulo-endothélial aurait agi, comme la splénectomie, en provoquant une rechute du paludisme.

Trois animaux ont reçu, par voie sous-cutanée, 1 cc (par 100 gr. de poids) d'une solution aqueuse à 1 p. 100 de bleu trypan selon la technique de Gillman [47].

Parmi ces trois rats, le 430 recevait l'injection alors qu'il se trouvait au stade IV avec une parasitémie de 3 p. 100 ; le 412 était guéri de sa primo-infection depuis 3 jours et le 423 depuis 6 jours. Les examens de frottis sanguins pratiqués pendant deux semaines n'ont montré aucune reprise de la parasitémie. C'est ainsi que le rat 430 a présenté l'évolution suivante (dans ce tableau, le jour 1 correspond à la date de l'injection du bleu trypan) :

Jours	1	2	3	5	6	7	9	11	
Parasitémie (GRP p. 100 GR)	3	0,5	0,1	0	0,01	0	0	0	etc.

2. *L'adrénaline* a provoqué chez un rat sur quatre une brève « sortie » d'hématozoaires (0.05 mgr. de chlorhydrate d'adrénaline par voie sous-cutanée).

3. Pour étudier l'effet d'une *altitude* élevée, nous avons, grâce à l'obligeance du Pr Malméjac, mis pendant quatre jours 6 rats dans un *caisson à dépression*, à des dépressions correspondant à des altitudes de 7.500 à 9.000 mètres, sans résultat.

4. Le sérum hémolytique antirat a entraîné une parasitémie transitoire chez un rat (sur 3).

5. *Hémothérapie.* L'autohémothérapie peut provoquer le réveil du paludisme d'inoculation chez l'Homme (P. Mollaret, J. Schneider). L'injection de sang (1 cc) a provoqué, chez un rat en fin d'infection, une réapparition de la parasitémie en quelques minutes. Par contre, pratiquée plusieurs jours ou plusieurs semaines après guérison clinique de la phase aiguë, l'injection de sang dans la séreuse péritonéale ne provoque pas de réveil du paludisme, ni même de « sortie » d'hématozoaires.

6. *Gestation. Mise bas. Allaitement.* Nous n'avons jamais constaté de réveil du paludisme chez les femelles en état d'immunité, ni pendant la gestation, ni après la mise bas, ni pendant l'allaitement.

7. *Saignée.* La saignée, que nous avons souvent faite chez des rats immuns, n'a jamais provoqué de rechutes, et pourtant le prélèvement de sang, pratiqué par ponction cardiaque, était relativement important par rapport au poids de l'animal : 2 cc de sang.

Le détail des observations sur adrénaline, altitude, sérum hémolytique antirat, hémothérapie, gestation, mise bas, allaitement se trouve dans la thèse de P. Grellet.

En conclusion, nous voyons que divers facteurs connus comme pouvant provoquer une rechute de paludisme chez l'Homme, chez les Singes (injection de cortisone) [64] ou les Oiseaux (blocage du système réticulo-endothélial) n'agissent pas avec la même régularité ou n'agissent même pas du tout sur l'infection latente du Rat. L'immunité acquise apparaît ainsi stable, du moins si la rate n'a pas été enlevée.

CHAPITRE III

Caractères généraux de l'immunité

Nous allons envisager la durée de l'immunité, l'immunité croisée, l'immunité congénitale, l'action des antimalariques sur l'immunité, la nature de l'immunité et rendre compte d'un essai d'immunisation artificielle.

I. — Durée de l'immunité.

Nous avons contrôlé la durée de la persistance de l'immunité chez le Rat guéri de primo-infection (immun) ou ayant subi des réinoculations d'hématozoaires (hyperimmun), en recherchant jusqu'à quelle date se manifeste encore une résistance aux réinfections. Pour ces dernières, nous avons utilisé, comme il nous est habituel dans ces épreuves d'immunité, des doses de plusieurs centaines de millions de globules rouges parasités.

Voici les résultats obtenus chez 11 animaux, dont 9 étaient immuns et 3 hyperimmuns.

Animaux immuns :

Rat	Temps entre la fin de la primo-infection et la réinoculation.	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours : 1 j.	2 j.	3 j.	4 j.	5 j.
211	2 mois	0,2	0			
S 7	4 mois	1	0,3	0		
S 81	4 mois	0,2	0,3	0		
S 4	5 mois		0			
S 18	8 mois	0,5	0,2			
S 9	9 mois	0,1	0			
213 G	11 mois	0,1	0,5	0,03		
216 G	11 mois	0,03	0,1	0,1		0

Animaux hyperimmuns :

Rat	Temps entre la fin de la primo-infection et la réinoculation.	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours: 1 j.	2 j.	3 j.	4 j.	5 j.
S 55	3 mois	0,02	0,01			
94 a	6 mois	0,5	1	1,5	0,2	0
94 b	6 mois	0,2	2	1,5	0	

On voit donc que la résistance aux réinoculations est parfaitement conservée. Il est à remarquer que les animaux 94 a et 94 b avaient été primo-infectés quelques jours après leur naissance puis réinoculés un mois après leur guérison. C'étaient donc, lorsqu'ils sont devenus hyperimmuns, de très jeunes rats de moins de 50 grammes : l'immunité a persisté au travers des transformations organiques de la croissance, avec simplement un léger fléchissement (parasitémie montant jusqu'à 1.5-2 p. 100). Ce sont eux qui, parmi ces 11 animaux, ont présenté le fléchissement le plus marqué (quoique très faible) de leur immunité. Les 213 G et 216 G, en 11 mois, n'ont pratiquement rien perdu de leur pouvoir de résistance aux surinfections.

Chez deux autres animaux, nous avons essayé de provoquer un fléchissement du terrain par saignée (2 à 3 cc) + vitamine B 12 quatre jours avant la réinoculation infectante, cette pratique ayant pour but d'augmenter la réticulocytose, donc la réceptivité de l'organisme. On a constaté alors un fléchissement de la résistance (la parasitémie s'est élevée à, respectivement, 2 et 15 p. 100), mais très bref ; cette faible durée de la parasitémie est la signature d'une immunité acquise encore forte et surtout rapidement rétablie, malgré le fléchissement du terrain.

	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours : 1	2	3	4	5
Rat 351 (hyperimmun depuis 3 mois)	3	15	3	0,2	
Rat 352 (hyperimmun depuis 3 mois)	0,5	2	3	0	

Nos résultats concordent avec ceux publiés par A. Corradetti. Cet auteur, chez 11 rats réinoculés de 67 à 205 jours après la fin de leur primo-infection, n'observe aucune parasitémie chez 7 et, chez 4, une faible positivité transitoire du sang pendant 3 à 5 jours [18].

Après guérison de la primo-infection, l'immunité persiste donc longtemps chez le Rat blanc, au moins 11 mois. Ceci fait poser la question de la nature de l'immunité dans le cas du *P. berghei* : prémunition ou immunité vraie, c'est-à-dire persistant après disparition de l'hématozoaire. Nous aborderons ce problème dans un chapitre suivant.

II. — Immunité croisée.

L'animal ou l'Homme qui a subi une première infection palustre possède un certain degré de protection contre une nouvelle infection par la même souche de *Plasmodium*. Cette immunité peut exister aussi entre souches différentes d'une même espèce, très forte pour les *Plasmodium* aviaires, moins régulière et plus ou moins marquée pour les hématozoaires humains ou simiens.

Nous avons recherché si, chez le Rat blanc, cette immunité croisée existe entre deux souches de *Plasmodium berghei*, souches I et II, présentant quelques différences entre elles, car la deuxième est en général moins virulente et produit encore des gamétocytes. La souche I est la souche Keyberg 17 que nous a procurée le Pr Dubois, d'Anvers; la souche II nous a été donnée par le Dr Schneider, de Paris. Rappelons que le Rat blanc spontanément guéri d'une primo-infection palustre ne présente plus de parasitémie importante après une nouvelle inoculation de la souche homologue.

Avec G. Fabiani, nous avons étudié cette immunité croisée, soit en essayant de réinfecter des animaux spontanément guéris d'une infection première ou hyperimmuns (dont l'immunité avait été renforcée par des injections ultérieures de parasites), soit en recherchant si une première épreuve d'immunité croisée (avec la souche hétérologue) avait renforcé l'immunité pour la souche homologue responsable de l'infection première [33].

1. *Recherche de l'immunité croisée.* Quatre rats immunisés contre la souche I, par guérison spontanée de l'infection première (219, 222), ou hyperimmunisés (94 a, 94 b) ont été éprouvés avec la souche hétérologue II ; de même trois rats immunisés contre la souche II (S 20, S 55, S 56) ont été inoculés avec la souche I.

L'injection d'épreuve a été faite selon la technique de routine qui sert pour l'entretien des souches : prise d'une goutte de sang à la queue d'un rat infecté et injection dans le péri-

toine du rat à éprouver. Cette petite quantité de sang qui correspond à quelques millions de globules rouges parasités, suffit à produire régulièrement le développement d'une infection chez des rats neufs après un temps de prépatence de quelques jours. Seul le rat S 20 a reçu 700 millions de globules rouges parasités.

Chez aucun des 7 animaux ainsi éprouvés, une nouvelle infection ne s'est développée. L'immunité croisée est donc manifeste.

2. *Analyse du phénomène de l'immunité croisée : les degrés de l'immunité.* Nous avons alors eu recours, chez 2 des animaux précédents et chez 16 autres rats, tous déjà immunisés, à l'injection intrapéritonéale de quantités très importantes de globules rouges parasités (de 300 à 700 millions), technique qui, comme nous l'avons longuement expliqué, permet de suivre le sort des hématozoaires inoculés puisque peu après l'injection intrapéritonéale il existe dans le sang circulant un nombre suffisant de globules rouges parasités pour qu'on puisse les voir facilement au microscope.

a) 8 rats immunisés contre la souche I ont été éprouvés par des injections intrapéritonéales massives de la souche II. Quatre éventualités ont été observées : (1) absence de passage décelable dans le sang des globules rouges parasités : 1 (n° 139) ; (2) passage de globules rouges parasités dans le sang, mais pas de multiplication décelable : 1 (218) ; (3) passage suivi de multiplication des hématozoaires pendant 24 heures : 3 (160, 223, 228) ; (4) passage suivi de multiplication pendant 48 heures : 3 (94 a, 94 b, 230).

b) 10 rats immunisés contre la souche II ont été éprouvés par des injections intrapéritonéales massives de la souche I. Les résultats ont été les suivants : (1) absence de passage dans le sang des globules rouges parasités : 3 (S 24, S 25, S 28) ; (2) passage des globules rouges parasités, non suivi de multiplication : 0 ; (3) passage suivi de multiplication pendant 24 heures : 4 (S 15, S 16, S 17, S 20) ; (4) passage suivi de multiplication pendant 48 heures : 3 (S 19, S 31, S 72).

Nous avons donc observé une immunité totale (ce qui correspond aux deux premières éventualités) chez 5 rats, et chez les 13 autres une faible multiplication des hématozoaires ; mais cette multiplication est de brève durée et peu importante, ne produisant malgré le grand nombre des parasites injectés qu'une parasitémie discrète toujours très inférieure à celle que produit l'infection d'un animal neuf.

Nous retrouvons donc là les degrés de résistance à la surinfection que nous avons décrits lors de la réinoculation de rats avec la souche responsable de l'infection première.

Enfin signalons que la résistance à la souche hétérologue n'est pas plus faible que celle acquise pour la souche homologue.

3. *Renforcement de l'immunité (contre la souche responsable de l'infection première) par l'épreuve d'immunité croisée.*

6 rats guéris d'une infection par la souche II ont été éprouvés avec la souche I, puis avec la souche II, toujours par la technique des inoculations intrapéritonéales massives. Nous avons comparé pour chaque animal le résultat de ces deux épreuves successives d'immunité. Chez ces 6 animaux, la première épreuve d'immunité croisée (avec la souche I) avait fait constater une légère multiplication pendant 24 ou 48 heures. La deuxième épreuve, avec souche II, a montré les modifications suivantes : (1) pas de passage des globules rouges parasités dans le sang : 1 (S 20) ; (2) passage mais non suivi de multiplication : 2 (S 16, S 19) ; (3) passage suivi de multiplication, mais pendant un temps plus court que lors de la première épreuve : 3 (S 17, S 21, S 31).

Il y a donc eu dans tous les cas renforcement d'immunité.

Conclusion. — Les expériences entreprises chez 23 rats montrent qu'il existe une immunité croisée entre deux souches de *P. berghei*, immunité mise en évidence par la résistance à la surinfection par la souche hétérologue. La technique des injections intrapéritonéales massives permet d'analyser ce phénomène, de retrouver dans cette immunité croisée les mêmes degrés que lors d'une surinfection par la souche plasmodiale qui a provoqué l'infection première et de constater qu'à la suite de l'épreuve croisée il y a renforcement de la résistance à la souche responsable de la primo-infection.

Ces résultats doivent être rapprochés de ceux que Vincke et Van den Bulcke ont obtenu chez *Rattus rattus*. Chez 12 animaux, réinoculés avec une autre souche 69 à 372 jours après leur première impaludation, il y eut trois rechutes (2 légères, 1 mortelle). Avec 13 autres *Rattus rattus* réinoculés avec du sang et des broyats d'organes de souris infectées, il y eut 2 cas de très faible parasitémie, 7 cas d'infection légère (1 à 10 parasites par champ durant 5 ou 6 jours), 2 décès [99].

III. — Immunité congénitale et protection passive par le lait.

Afin de voir s'il existait une transmission de l'immunité de la mère à l'enfant, nous avons réalisé les expériences suivantes avec G. Fabiani et H. Jahier.

Première série d'expériences. Impaludation d'animaux nés de femelles immunisées et éprouvés un certain temps après la fin de l'allaitement.

17 rats, nés de femelles immunes (ces dernières avaient terminé leur primo-infection depuis un temps variable) ont été impaludés par voie intrapéritonéale. 9 étaient adultes (plus de 100 grammes) et 8 pesaient de 25 à 50 grammes.

La parasitémie a été la même chez ces 17 animaux que chez leurs témoins.

Deuxième série d'expériences. Impaludation, au cours de leur lactation, de rats nés de femelles immunisées.

L'expérience porte sur 6 rats nouveau-nés, nourris par leurs mères qui avaient terminé leur primo-infection trois mois environ avant de mettre bas.

Petits de la femelle S 180 (jour 1 = lendemain de l'impaludation) :

	Poids	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours :										
		1	2	4	6	8	9	11	13	16	17	20
Rat 1	20 g.	0	+	2	3	2	4	25	30	0		
Rat 2	20 g.	+	0	0,5	1,5	2	3	3	20	0,5		0
Rat 3	20 g.	0	0,05	0	3	15	10	20	10	10	3	0

Petits des femelles S 179 (nos 4 et 5) et S 181 (no 6) :

	Poids	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux jours :									
		1	3	6	8	10	12	13	14	15	16
Rat 4	12 g.	0,03	0,1	15	30	25	30		40	50	0
Rat 5	17 g.	0	0,01	15	20	20	40		40 (0)		
Rat 6	18 g.	1	5	25	20	30	60	0			

Dans d'autres paludismes, on a observé un certain degré d'immunité transmis passivement, à travers le placenta, de la mère à l'enfant : la parasitémie peut rester basse pendant deux mois chez les enfants nés de mères paludéennes (Barber, Clark) [91].

Dans nos quelques expériences, nous n'avons pas observé de phénomène qui puisse faire penser à l'existence d'une protection chez les rats nés de femelles immunes et qui avaient cessé d'être nourris par le lait maternel.

Par contre, le jeune rat nourri par sa mère immune peut être protégé (rats 1, 2, 3). Il s'agit bien d'une protection dans notre expérience car, comme l'a montré H. Galliard, la proportion de mortalité est en raison inverse du poids de l'animal, et les expériences d'impaludation de rats d'un poids voisin de 20 gr. rapportées par P. Grellet [49] indiquent une mortalité chez ceux-ci voisine de 100 p. 100.

Outre la guérison observée chez les petits rats 1, 2 et 3, la protection se manifestait chez eux aussi par le fait que leurs nombreux polychromatophiles n'étaient pas tous parasités et que l'on remarquait des formes de souffrance même au moment de l'ascension et du plateau maximum de la parasitémie. Les petits rats 4, 5, 6, au contraire, ont toujours montré un parasitisme de tous leurs polychromatophiles et ne présentèrent presque à aucun moment de formes de souffrance en quantité appréciable.

On ne peut décider ce qui revient au facteur immunité congénitale et immunité transmise par le lait.

Des anticorps humoraux passent donc à travers le placenta ou dans le lait et protègent le jeune rat, ou du moins permettent au jeune organisme de résister à l'infection pendant le temps suffisant pour acquérir une forte immunité.

Cette protection passive ne semble ni très forte ni très durable, puisqu'elle a été observée chez 3 rats nouveau-nés sur 6 et n'a pas été vue chez les animaux plus âgés déjà sevrés, ce qui est en accord avec le résultat de nos expériences de séroprotection.

IV. — Incidences sur l'immunité de l'emploi d'antimalariques.

Nous avons recherché l'influence, sur l'immunité, de l'emploi d'un schizonticide : la nivaquine (diéthylamino-4' méthyl-1' butylamino-4 chloro-7 quinoléine), que nous devons à l'obligeance de la Société Parisienne d'Expansion Chimique.

a) *Emploi de la nivaquine pendant le cours de la primo-infection.*

5 animaux ont eu leur infection arrêtée par injection de nivaquine, alors que leur parasitémie était déjà élevée ; puis

l'on a étudié leur pouvoir de résistance aux réinfections, à des temps variables après ce traitement.

1. Réinoculation à dose modérée. Le rat 79 commence à recevoir de la nivaquine 17 jours après l'inoculation infectante, alors que sa parasitémie atteint 60 p. 100. Durant 3 jours de suite, on lui injecte quotidiennement 2 mgr. de nivaquine par voie sous-cutanée ; la parasitémie tombe à 20 p. 100 24 heures après la première injection, à 1 p. 100 après la deuxième, et à 0 p. 100 après la troisième. 23 jours après la fin du traitement, l'animal est éprouvé par une injection intrapéritonéale de un million de globules rouges parasités. On n'observe pas de reprise de la parasitémie.

2. Réinoculation à dose forte un mois après le traitement. Les animaux 314 et 317 présentent 9 jours après impaludation une parasitémie voisine de 5 p. 100. Ils reçoivent alors une injection unique de 5 mgr. de nivaquine sous-cutanée. Les hématozoaires cessent d'être visibles sur lames 3 jours après. Un mois plus tard, une injection intrapéritonéale de quantités importantes de globules rouges parasités provoque seulement le lendemain une très faible apparition d'hématozoaires : respectivement 3 et 5 pour 20 champs.

3. Réinoculation à dose forte plusieurs mois après traitement. Le rat S 76 (60 grammes), impaludé le 3 décembre, présente le 14 une parasitémie à 40 p. 100. Ce jour-là, il reçoit, par voie sous-cutanée, 10 mgr. de nivaquine. La parasitémie chute en 3 jours. Le 20 juin — soit 6 mois plus tard — injection intrapéritonéale massive : réveil pendant 4 jours d'une parasitémie qui a son maximum (1,5 p. 100) le deuxième jour.

Le rat 94, adulte, impaludé le 6 avril, a 10 jours plus tard 8 p. 100 de globules rouges parasités dans son sang : pendant 3 jours consécutifs, on lui injecte, par voie sous-cutanée, 2 mgr. de nivaquine. Dès le lendemain de la deuxième injection de nivaquine, on ne décèle plus d'hématozoaires sur frottis sanguin. Eprouvé par une injection intrapéritonéale massive le 7 décembre (soit plus de 8 mois après), les parasites sont visibles dans le sang pendant 3 jours avec un taux maximum de 2 p. 100 de globules rouges parasités.

b) *Emploi de la nivaquine apres guerison de la primo-infection.*

a) *Influence du traitement à la nivaquine sur le réveil par splénectomie ou surrénalectomie.* — 6 rats adultes, guéris de

leur accès de primo-infection, reçoivent pendant quatre jours consécutifs une dose quotidienne de 2 mgr. de nivaquine par voie sous-cutanée. Puis on leur enlève à la fois la rate et les surrénales.

Rats	Intervalle entre fin primo-infection et début traitement par nivaquine	Intervalle entre dernière injection de nivaquine et splén. + surr.	Evolution
177	2 jours	6 jours	Pas de réveil en 6 jours
178	2 jours	6 jours	Pas de réveil en 5 jours
179	5 jours	6 jours	Pas de réveil en 5 jours
163	12 jours	7 jours	Pas de réveil en 4 jours
164	12 jours	6 jours	Pas de réveil en 7 jours
83	2 mois	7 jours	Pas de réveil en 11 jours

b) *Influence du traitement à la nivaquine sur la résistance aux surinfections.* — Un lot de 8 rats, immuns, reçoivent pendant 4 jours par voie sous-cutanée 2 mgr. de nivaquine pour 100 grammes de poids. Ces animaux avaient fini leur accès aigu de primo-infection depuis 8 jours (408), 16 jours (L 68), 20 jours (L 74), 2 mois (386), 3 mois (L 68, S 179, S 180, S 181).

Deux d'entre eux (408, 386) sont splénectomisés 18 jours après la cessation du traitement. Ils n'avaient pas présenté de réveil de leur parasitémie lorsqu'ils meurent 5 et 6 jours plus tard.

Trois autres reçoivent dans le péritoine une injection de globules rouges parasités (environ 300 millions) 26 jours après cessation du traitement. Les résultats obtenus ont été les suivants :

Rats	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux temps (les temps sont comptés à partir de la réinoculation)				
	12 h.	24 h.	2 j.	3 j.	4 j.
S 165	0,2	0,2	0,03	0	0
L 74	0,5	0,7	0,4	0	
L 68	0,3	0,1	0,3	0,05	0

Trois autres reçoivent l'injection massive 43 jours après cessation du traitement. L'inoculat contenait environ 150 millions de globules rouges parasités.

Rats	Parasitémie (GRP p. 100 GR) aux temps :		
	16 h.	24 h.	48 h.
S 179	0,02	0,02	0
S 180	0,01	0,02	0
S 181	0,01	0	0

Commentaires

1. *L'emploi à la période d'état* de la maladie d'un schizonticide tel que la nivaquine, en supprimant rapidement la parasitémie visible, n'empêche pas une résistance aux réinoculations de se manifester dans le ou les mois qui suivent.

Les doses de nivaquine que nous avons employées ont été variables. Etaient-elles suffisantes pour assurer une stérilisation totale de l'organisme ? Sans doute, lorsque l'animal a reçu 3 jours consécutifs 2 mgr. de nivaquine ; on ne peut l'affirmer quand il s'agit d'une dose unique de 5 mgr. (rats 314, 317) ou de 10 mgr. (rat S 76).

Les deux animaux qui ont reçu 3 injections de 2 mgr. de nivaquine montrent : le rat 79, que l'immunité, qui s'est établie quand l'infection a été arrêtée à l'acmé de l'accès (parasitémie à 60 p. 100), est déjà suffisamment forte pour permettre une résistance aux faibles réinoculations ; le rat 94, que l'immunité acquise après arrêt de l'infection à la période d'état se maintient pendant plus de 8 mois, l'animal manifestant alors un pouvoir de résistance aux réinoculations massives sensiblement égal à celui que l'on constate chez l'animal spontanément guéri.

Chez tous les animaux, le raccourcissement par traitement de la longueur de l'accès de primo-infection n'a pas empêché l'établissement d'un pouvoir de résistance aux surinfections analogue à celui de l'animal dont l'accès a évolué plus longuement en l'absence d'intervention.

2. *L'emploi de la nivaquine chez l'animal immun.*

La splénectomie et la surrénalectomie d'animaux immuns nivaquinés avaient pour but de rechercher si la nivaquine détruit les parasites ou au moins affaiblit tellement l'infection que celle-ci ne peut plus être réveillée par la splénectomie même associée à la surrénalectomie. En effet, 5 sur 6 des rats en expérience furent splénectomisés entre 12 et 23 jours après guérison de leur primo-infection ; normalement, on observe une forte proportion de réveil dans ces délais chez l'animal non traité.

La réinoculation de fortes doses d'hématozoaires chez l'animal immun nivaquiné montre que la stérilisation de l'organisme (ou au moins un affaiblissement tel du parasitisme que celui-ci ne peut plus être cause de rechute par splénectomie ou surrénalectomie) n'entraîne pas une diminution du pouvoir de résistance aux surinfections dans le mois qui suit la cessation du traitement. Nous n'avons pas recherché si cette résistance aux surinfections persiste pendant des mois comme chez l'animal non traité. Cependant, en faveur de cette éventualité, milite l'exemple du rat 94 qui, nivaquiné au cours de la période d'état, donc avant que l'immunité n'ait commencé à apparaître, présente cependant une capacité de résistance aux réinoculations 8 mois après.

En résumé, il semble donc que l'emploi de la nivaquine, dans le but de détruire les hématozoaires, n'empêche pas, quand cette thérapeutique est instituée après plusieurs jours d'infection sanguine, l'apparition de l'immunité spécifique et ne provoque pas non plus une diminution rapide de cette immunité acquise, telle qu'elle se manifeste par la résistance aux réinoculations. L'immunité acquise pourrait donc persister même en l'absence d'hématozoaires. Nous reviendrons sur ce point en un autre chapitre.

V. — Tentatives de vaccination au moyen de parasites tués, avec adjuvants.

Les essais de vaccination chez l'homme se sont montrés décevants jusqu'à ce jour.

Par contre, chez l'animal des résultats déjà très satisfaisants ont été obtenus. C'est ainsi que dans le paludisme aviaire on a employé comme vaccin des hématozoaires maintenus au froid (Redmond), ou des cellules parasitées tuées par le formol ou la chaleur (Gingrich) ou en ajoutant des adjuvants comme la toxine staphylococcique (Jacobs). Freund utilise des hématozoaires tués par le formol, qu'il mélange à une substance type lanoline, à de l'huile de paraffine et à des bacilles tuberculeux desséchés : Coffin utilise Falba, Bayol F et bacilles tuberculeux desséchés [84].

Nous avons essayé une technique de vaccination inspirée de celle de Freund et coll. Du sang contenant 30 à 40 p. 100 de globules rouges parasités est recueilli sur eau citratée. Après cen-

trifugation suivie de deux lavages par eau citratée. le culot de centrifugation est mis en suspension dans de l'eau physiologique formolée à 1 p. 100 et conservé à la glacière. Puis après nouvelle centrifugation et lavage par eau physiologique, les globules rouges sont mis en suspension dans de l'eau physiologique, émulsionnés dans lanoline + huile de paraffine et on y ajoute des bacilles tuberculeux tués par la chaleur. On obtient une émulsion stable, eau dans l'huile.

14 animaux neufs et adultes ont reçu (10 par voie sous-cutanée, 4 dans le péritoine) un centimètre cube de ce mélange, contenant 500 millions de globules rouges parasités environ.

Une nouvelle inoculation est réalisée, un mois et demi après (200 millions de globules rouges parasités).

Les animaux sont éprouvés 4 mois après avoir reçu le premier inoculat. Il n'en reste que 11 (8 vaccinés par voie sous-cutanée, 3 vaccinés par voie intrapéritonéale), 3 rats étant morts dans l'intervalle.

L'infection se développe normalement; 2 rats (vaccinés par voie s. c.) sur 11 meurent de leur primo-infection: proportion qui à premier abord semble faible, mais qui peut être normale si l'on considère qu'il s'agit de gros rats adultes (Galliard). La parasitémie a duré 8 jours chez 2 animaux, 10 jours chez un, 12 jours chez 5, 13 jours chez un ; le taux maximum de parasitémie a été modéré (aux environs de 10 p. 100).

Nous n'avons donc pas obtenu de protection au moins appréciable. Cela tient peut-être à la faible quantité d'antigène présent dans le vaccin.

VI. — Nature de l'immunité.

Nous avons vu que, chez le rat guéri de sa primo-infection ou rendu hyperimmun, la résistance aux réinoculations persiste pendant des mois, pendant tout le temps où dure l'immunité. Qu'est-il advenu de l'hématozoaire ? Survit-il dans l'organisme, c'est-à-dire avons-nous à faire à cette qualité d'immunité dans laquelle l'état de résistance aux surinfections « dure tant que l'organisme reste porteur de germes » [66] ? ou bien les parasites disparaissent-ils avant l'immunité ?

Voici les faits observés chez le Rat blanc :

1° *Durée maximum de l'observation microscopique du Plasmodium dans le sang.*

L'extrême limite à laquelle un parasite a été observé sur un frottis est le 50e jour après cessation de l'attaque primaire (Corradetti) [18].

2° *Durée maxima pendant laquelle le sang ou les organes sont infectants pour la souris.*

C. Levaditi et Vaisman rapportent que l'injection à des souris de sang d'un rat le 37e jour et de sang et d'organes d'un autre rat le 45e jour après l'inoculation infectante (l'examen des lames de sang ne montra plus de parasites), provoque un paludisme de la souris [54].

Black obtient l'infection de souris en les inoculant avec le sang ou des organes d'un rat impaludé 70 jours auparavant, c'est-à-dire guéri depuis 55 jours; mais le sang et les organes d'un autre animal, impaludé 91 jours avant, c'est-à-dire guéri depuis 78 jours, laissent indemnes les souris inoculées [4].

3° *Délai pendant lequel la splénectomie provoque une rechute.*

Corradetti n'observe aucune rechute chez les animaux qu'il a splénectomisés de 28 à 122 jours après cessation de la parasitémie de primo-infection.

Black ne constate plus de rechute lorsque la splénectomie est réalisée à partir du 52e jour qui suit l'inoculation première, alors qu'il existe des réveils du paludisme quand l'ablation de la rate a lieu avant ce délai.

Nos épreuves de splénectomie chez l'animal immun nous ont procuré des résultats très comparables : les reprises de la parasitémie ne se produisent plus lorsque l'ablation de la rate est faite un mois après guérison de l'accès de primo-infection.

4° *Persistance d'une résistance après destruction parasitaire par la nivaquine.*

Nous avons montré précédemment (en étudiant les incidences sur l'immunité de l'emploi d'antimalariques) que, malgré la destruction des hématozoaires par un antimalarique, les animaux se comportent vis-à-vis des réinjections de quantités massives d'hématozoaires de façon semblable à celle des rats non traités par un schizonticide.

Commentaires

1° *Disparition spontanée des hématozoaires de l'organisme.*

Nous résumons dans le tableau suivant les résultats fournis par les trois modes d'exploration utilisés :

	Limite du temps, écoulé depuis guérison de l'accès de primo-infection, où un hématozoaire a pu être décelé dans l'organisme du rat.
par examen de frottis	50 jours
par subinoculation à la souris	$55 < x < 78$ jours
par splénectomie	1 mois environ

De ce tableau, il ressort d'abord l'insuffisance relative de la splénectomie pour tester la guérison totale d'un animal. En effet elle ne donne plus de réveil quand elle est pratiquée un mois après guérison de la primo-infection alors que l'examen de frottis ou la subinoculation permet de déceler l'hématozoaire à une époque encore plus tardive chez certains animaux.

Ne pas déceler d'hématozoaires à l'examen de frottis sanguins ne peut être considéré non plus comme un test de la disparition de toute plasmodie de l'organisme ; la parasitémie peut persister, mais à un taux si faible qu'elle ne puisse être visible au microscope, sinon par un examen exceptionnellement attentif et un heureux hasard ; ou bien l'hématozoaire peut persister dans les organes profonds — comme dans des repaires — sans passer dans la circulation périphérique. Cependant les minutieux examens de frottis de A. Corradetti, en nous montrant que l'hématozoaire peut être perçu jusqu'au 50e jour après guérison de la primo-infection, nous apprennent à tenir pour suspect de conserver des hématozoaires tout animal guéri depuis moins de 51 jours.

L'inoculation de sang, et surtout des divers organes, à la souris, est sans conteste de grosse valeur pour juger de la disparition totale des hématozoaires. Elle n'a été employée malheureusement que chez peu d'animaux ; mais il est fort intéressant d'avoir constaté l'absence de pouvoir infectant des organes et du sang au 91e jour qui suit l'impaludation.

C'est qu'en effet les résultats obtenus par ces divers modes d'exploration nous orientent tous dans la même direction : la

rapidité et la continuité avec lesquelles décroît la vitalité du parasite dans l'hôte. Avec la chute rapide et régulière de la parasitémie à partir de la crise, commençait le déclin de l'agresseur ; ce déclin continue pendant la période latente métacritique, invisible mais décelable : d'abord par l'absence de rechute après splénectomie pratiquée un mois plus tard ; puis même les « sorties » épisodiques d'hématies cessent après 50 jours ; enfin les broyats d'organes eux-mêmes ne sont plus infectants. Cette convergence des résultats, qui nous montrent un parasitisme de plus en plus affaibli, possède à notre sens une force assez probante pour nous inciter à croire à une disparition totale des hématozoaires dans un laps de temps inférieur à 3 mois, compté à partir de la guérison de la primo-infection.

2° *La stérilisation thérapeutique.*

La nivaquine est un schizonticide puissant ; sans doute n'affecte-t-elle pas les formes exo-érythrocytaires, mais dans le paludisme du Rat à *P. berghei*, qui est un paludisme transmis par inoculation de schizontes et non de sporozoïtes, on n'a jamais pu mettre en évidence de cycle exo-érythrocytaire (ce qui explique d'ailleurs l'absence de rechutes spontanées). Il semble donc bien que cette thérapeutique procure une stérilisation totale de l'organisme, et réalise une « therapia sterilisans magna ». Or, chez des animaux traités par la nivaquine, le pouvoir de résistance aux réinoculations ne fléchit pas. Les résultats de nos expériences concordent donc avec ceux des investigations citées dans les pages précédentes.

Il semble donc que l'on soit en droit de penser que dans le paludisme expérimental du Rat à *P. berghei*, tel qu'il est étudié aujourd'hui, c'est-à-dire sans transmission par le moustique, l'immunité persiste même après disparition des parasites de l'organisme.

CHAPITRE IV

Mécanisme de l'immunité

En 1951, J. T. Culbertson écrivait : « L'idée est souvent « mise en avant par des auteurs ayant autorité en matière de « paludologie, que la réponse immunitaire observée dans le palu- « disme est fondamentalement différente de celle qui existe dans « d'autres affections parasitaires. En effet, il est couramment « admis par des paludologues que l'immunité dans le paludisme « est « cellulaire » tandis que dans la trypanosomiase, par exem- « ple, elle est « humorale ». Depuis la démonstration faite par « Coggeshall que l'immunité vis-à-vis de *P. knowlesi* peut être « transférée passivement à *Macacus rhesus*, cependant, il devient « de plus en plus évident qu'il y a similitude plutôt que diffé- « rence entre la réponse immunitaire au paludisme et celle à « d'autres maladies parasitaires » [23].

De fait, nous avons retrouvé ce double mécanisme cellulaire et humoral en étudiant l'immunité chez le Rat blanc infecté par *P. berghei*. Nous allons exposer nos recherches d'abord sur les facteurs humoraux puis sur la phagocytose.

§ I. — Facteurs humoraux.

Certains phénomènes observés au cours de l'accès aigu de primo-infection laissent soupçonner ou font postuler l'apparition de facteurs humoraux.

Nous ne parlerons pas de la baisse ou de la disparition de l'*alexine*, démontrées par R. Vargues, qui ont une signification pronostique fâcheuse [93].

Nous n'insisterons pas sur les *sensibilisatrices* spécifiques, fixant le complément, étudiées par R. Vargues, G. Fabiani et nous-même [94]. Les anticorps apparaissent vers le 10e jour de la maladie et leur taux s'accroît jusqu'au 15e jour. Mais ces anticorps disparaissent beaucoup plus tôt que l'immunité spéci-

fique (mesurée par la résistance aux réinoculations) ; ils ne peuvent donc être responsables de cette immunité.

Nous avons recherché l'existence d'anticorps identiques à ceux que Sabin a mis en évidence dans le Toxoplasmose, anticorps qui, se fixant sur les parasites libres extra-cellulaires, permettent la fixation de colorants tels que le bleu de méthylène alcalin, ce qui traduirait la mort du parasite par suite de l'action néfaste de l'anticorps [63]. Nous avons appliqué la technique de Sabin sur des échantillons de sang prélevés au début de l'infection et lors du déclin, donc après intervention de l'immunité acquise. Les résultats ont été négatifs : nous n'avons constaté aucune différence dans la coloration des parasites. Mais dans l'interprétation de cet échec, il faut se rappeler que les hématozoaires se trouvent à l'intérieur des hématies, ce qui modifie les conditions de l'expérience. Les recherches doivent donc être reprises sur des parasites libérés des globules rouges.

Par contre, il faut étudier les modifications spécifiques apparues à partir de la crise :

— Existence d'un facteur humoral diminuant le nombre des mérozoïtes. Nous lisons, dans la thèse de P. Grellet [49] : « W. L. Taliaferro et L. G. Talieferro ont montré que dans l'immunité antimalarique on avait : un allongement de la durée du cycle asexué, une diminution du nombre moyen des mérozoïtes produits à chaque segmentation, une destruction d'un nombre de plus en plus grand de mérozoïtes. Seul le deuxième de ces facteurs peut être apprécié et est manifeste dans le cas de l'infection du Rat : le nombre de mérozoïtes par rosace passe de 18 à 30 en cours d'infection à 6, 12 en fin d'infection... Pour ces deux auteurs : « la diminution du nombre des mérozoïtes par rosace est vraisemblablement due à une action antiparasitaire de quelque facteur sérologique ». »

— Allongement de la période de prépatence quand les hématozoaires destinés à l'inoculation sont prélevés au stade III ou IV. Avec G. Fabiani, R. Vargues, P. Grellet et A. Verain [29] nous avons remarqué que l'apparition d'une immunité acquise peut se mettre en évidence aussi en inoculant à des animaux neufs une même quantité de globules rouges parasités prélevés chez un rat à des stades successifs de son évolution. Lorsque les parasites inoculés proviennent d'un animal en début d'infection, la période prépatente est plus courte que si le même nombre d'hématozoaires est prélevé chez un animal en fin d'infection (même si celle-ci évolue ultérieurement vers la mort). Les chiffres suivants illustrent ces faits :

Nombre d'hématozoaires injectés	Durée de la période prépatente avec hématozoaires prélevés en début d'infection	Durée de la période prépatente avec hématozoaires prélevés en fin d'infection
100.000	4 jours	5 jours
1.000	6,5 jours	7,5 jours
100	9 jours	10 jours

Cette observation peut s'expliquer par l'intervention de facteurs humoraux, d'anticorps surtout, qui s'opposent à la multiplication des hématozoaires ou en favorisent la phagocytose.

— Pouvoir protecteur du sérum, qui agit probablement par action opsonisante. Nous allons nous étendre plus longuement sur ce sujet.

Le pouvoir protecteur du sérum

Dans le but d'élucider le mécanisme de l'immunité dans le paludisme, de nombreuses expériences ont été réalisées, recherchant l'existence d'anticorps protecteurs dans le sérum d'hommes ou d'animaux guéris. Si certains résultats n'ont pas été probants, les travaux de Coggeshall et Kumm [13] suivis par d'autres chercheurs ont montré dans des paludismes simiens ou aviaires la réalité de ce pouvoir séro-protecteur.

Nous avons entrepris, avec G. Fabiani, des investigations semblables chez le Rat blanc [41]. Le sang a été prélevé par ponction cardiaque soit lors de la guérison, soit chez des animaux immuns, soit chez des rats hyperimmuns dont l'immunité avait été renforcée après guérison par une ou plusieurs injections massives d'hématozoaires. Les épreuves de séro-protection ont été réalisées *in vivo* par injection de quantités importantes de sérums à 29 rats, 12 autres servant de témoins, et par injection intrapéritonale, ultérieure ou simultanée, de quantités massives d'hématies parasitées. Chez la majorité de ces animaux, nous avons suivi, en même temps que la parasitémie, la courbe de réticulocytose sanguine puisque ces hématies granulofilamenteuses sont électivement parasitées et que la détermination de leur pourcentage dans le sang traduit et assure la réceptivité de l'organisme quand aucun facteur d'immunité acquise ne s'y oppose.

A. — Expériences.

Expérience 1.

Il s'agit de deux animaux adultes (de poids supérieur à 100 grammes) dont l'un reçoit du sérum de rats immuns, l'autre (L 59) — servant de témoin — reçoit dans les mêmes conditions du sérum d'animal neuf.

L'injection infectante est réalisée par inoculation intrapéritonéale de 100 millions de globules rouges parasités en suspension dans 1 cc de sérum ; ce mélange d'hématies de rat infecté et de sérum avait été maintenu à l'étuve à 37° pendant une demi-heure. Au cours des 7 jours suivants, les deux animaux reçoivent quotidiennement dans le péritoine les mêmes doses de sérum, sérum immun pour l'animal en expérience, sérum normal pour le témoin. Dès le lendemain de l'impaludation, le rat L 58 présente une parasitémie plus faible que son témoin ; le surlendemain le taux des globules rouges parasités baisse et reste à ce dernier niveau jusqu'au 6e jour ; à partir de ce moment, malgré la sérothérapie, la parasitémie s'élève : toutefois l'infection reste faible et elle est de brève durée.

Jours (1 = lendemain de l'inoculation)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11
Rat L 58 GRP p. 100 GR	0,3	0,1	0,1	0,1	0,5	1,5	6	3	2	0
Rat L 59 GRP p. 100 GR (témoin)	1,5	3	4	2	3	12	2	0,1	0,1	0,1
Sérum (en cc)	2	2	2	2	0,5	2	1			

Expérience 2.

Ce sont encore des animaux adultes. L'injection de sérum est faite en même temps que l'inoculation de 200 millions de globules rouges parasités. Les injections de sérum sont répétées les 4 jours suivants à la dose de 1 cc : les deux animaux testés (L 83, L 84) reçoivent du sérum prélevé chez des rats immuns ou hyperimmuns, le témoin (L 82) reçoit du sérum d'animal neuf.

La parasitémie, qui après 24 heures a atteint un taux normal, de 1 ou 1,5 p. 100, s'abaisse le surlendemain à 1 p. 1.000 ; elle s'élève ensuite très faiblement pour atteindre les taux respectifs de 1 et 3 p. 100 le 5e jour qui suit l'impaludation. L'infection est alors très faible et brève. L'établissement du pourcentage des réticulocytes montre qu'ils ont un taux égal ou supérieur à 3 p. 100 : l'infection aurait donc pu s'élever davantage s'il n'y

avait eu l'intervention du sérum ; et ce qui le confirme, c'est le parasitisme de tous les réticulocytes chez le témoin.

Jours		1	2	3	4	5	6	7	8
Rat L 83	GRP p. 100 GR)	1	0,1	0,5	0,2	3	2	0,1	0,02
	Rét. (p. 100 GR)		*3*	*3*	*8*	*8*	*20*	*10*	*25*
Rat L 84	GRP (id)	1,5	0,1	0,2	0,5	1	1,5	0,2	0
	Rét. (id)		*3*	*3*	*6*	*4*	*10*	*5*	
Rat L 82	GRP (id)	2	2	2	3	5	4	1,5	+
(témoin)	Rét. (id)		*1,5*	*2,5*	*3*	*6*	*10*	*15*	*20*
Sérum (en cc)		1	1	1	1				

Expérience 3.

L'expérience est réalisée sur de petits rats de 50 grammes chez lesquels on a provoqué une augmentation de la réticulocytose par l'association saignée-5 gamma de vitamine B 12 quelques jours auparavant.

L'injection de sérum immun (mélange de sérums provenant des rats S 9 hyperimmun, S 55 hyperimmun, S 76 immun) est faite 24 heures après l'inoculation péritonéale massive de parasites, alors que l'infection sanguine est déjà manifeste. La dose utilisée pour réaliser l'impaludation était de 60 millions de globules rouges parasités.

Rat	Poids	Sérum	24 h.		2 j.		3 j.		4 j.	
	(g.)	(en cc)	GRP	Rét.	GRP	Rét.	GRP	Rét.	GRP	Rét.
405	50	1	2,5	*10*	5	*12*	7	7	5	*6*
406	55	1	1	*10*	3	*8*	4	*4,5*	3	*6*
407	55	1	2	*6*	4	*7*	3,5	*5*	3	*4*
408 (témoin)	45	1	1,5	*4*	4	*5*	3	*3*	2	*3*
409 (témoin)	65	1	1,5	*15*	12	*12*	12	*6*	6	*6*

Le lendemain de l'injection de sérum, l'infection s'est élevée nettement chez tous les rats. On pourrait donc croire qu'il n'y a pas eu de séro-protection ; mais, 24 heures après la sérothérapie on remarque les faits suivants :

— chez les témoins, tous les réticulocytes sont parasités, et l'élévation de cette parasitémie est directement fonction du taux des réticulocytes ;

— chez les rats traités par le sérum immun, la parasitémie quoique haute est nettement plus faible que ne pouvait le faire prévoir le taux des réticulocytes : il y a une proportion importante de réticulocytes libres.

Le 3e jour, l'effet du sérum a cessé.

D'où l'intérêt de suivre la réticulocytose dans ces épreuves de séro-protection ; on peut ainsi déceler une protection faible, qui passerait inaperçue par la simple numération des globules rouges parasités.

Expérience 4.

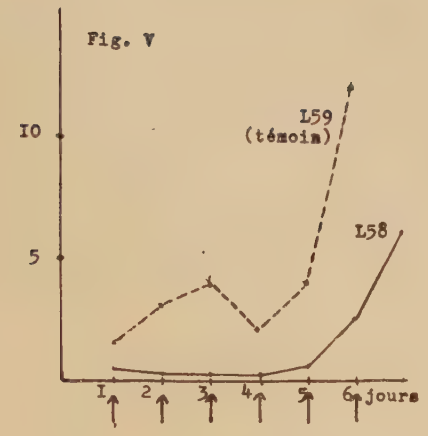
Jeunes rats de 50 grammes chez lesquels on a provoqué une augmentation de la réticulocytose (comme dans l'expérience précédente) et qui reçoivent 1,2 cc de sérum dans la cavité péritonéale une heure avant l'inoculation infectante de 30 millions de globules rouges parasités.

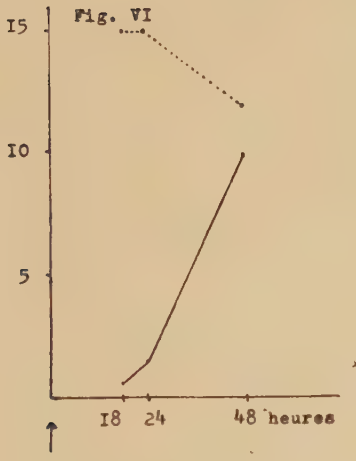
Rat	Poids (g.)	Sérum (en cc)	provenant du rat	18 h. GRP	18 h. Rét.	24 h. GRP	24 h. Rét.	2 j. GRP	2 j. Rét.	3 j. GRP	3 j. Rét.
410	50	1,2	S 81 (immun)	0,01	*10*	0,1	*10*	0,1	*10*	2	*8*
411	47	1,2	S 96 (hyper-immun)	0,1	*15*	0,1	*12*	0,1	*15*	2	*10*
412	56	1,2	S 97 (hyper-immun)	0,1	*10*	0,2	*10*	0,1	*15*	2	*15*
413	42	1,2	neuf	1	*10*	2	*10*	15	*16*	5	*5*
414	52	1,2	neuf	0,5	*15*	1,5	*15*	10	*12*	5	*5*

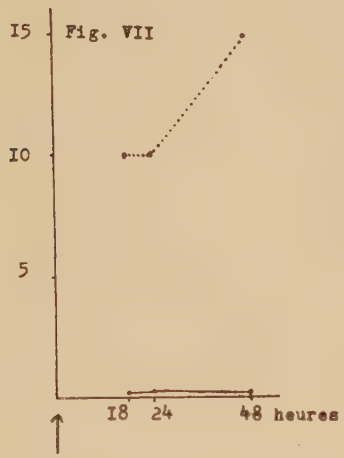
Chez les animaux traités par le sérum immun, la parasitémie est très faible après 18 heures et le reste jusqu'à la 48e heure. Elle s'élève le 3e jour, mais sans présenter l'ascension rapide que commande la réticulocytose forte : il y a encore des réticulocytoses libres. Ce n'est qu'à partir du 4e jour suivant l'injection péritonéale massive que l'infection est importante et correspond au taux des réticulocytes.

Par contre, chez les témoins la parasitémie à la 18e heure est assez importante et s'élève encore rapidement pour atteindre 2 p. 100 à la 24e heure. La courbe continue à monter rapidement puisqu'un jour plus tard l'infection est très importante : 10, 15 p. 100 ; tous les réticulocytes sont parasités. Signalons que la réticulocytose baisse ensuite, comme il est fréquent de le voir en cas de réticulocytose provoquée avant infection.

La netteté des résultats obtenus ici nous fait penser que la dose infectante de 30 millions de globules rouges parasités est celle qu'il convient d'employer de préférence, chez ces petits rats de 50 grammes.







Graphiques destinés à montrer l'action protectrice du sérum de Rat hyperimmun.

En abcisses : les temps (comptés à partir de l'impaludation).

En ordonnées : la parasitémie et la réticulocytose. La parasitémie (GRP p. 100 GR) en traits pleins (Fig. V, VI, VII) et en trait discontinu (Fig. I : témoin) ; la réticulocytose (Rét. p. 100 GR) en pointillés.

Injections de sérum : flèches verticales en-dessous de la ligne des abcisses.

Fig. V. — Parasitémie chez le Rat adulte protégé par le sérum (L 58, en trait plein) et chez son témoin (en traits discontinus) (expérience 1).

Fig. VI. — Parasitémie et réticulocytose chez 414, jeune rat servant de témoin à 412 (exp. 4).

Fig. VII. — *Id.* chez 412 (exp. 4) : l'action protectrice du sérum se manifeste par le faible degré de la parasitémie et par l'écart entre le taux des GRP et celui des réticulocytes.

Expérience 5.

5 rats de 50 grammes environ reçoivent des doses de sérum de 1 cc et sont impaludés une heure après avec 40 millions de globules rouges parasités. Chez les 4 rats recevant le sérum d'animaux infectés ou immuns, on avait provoqué par la technique habituelle une augmentation de la réticulocytose.

Le 415 et le 416 reçoivent du sérum prélevé en fin de primo-infection, quand la parasitémie était devenue très faible ; les 417 et 418 reçoivent du sérum d'animaux guéris depuis 6 semaines ; le témoin (419), qui ne reçoit pas de sérum neuf, n'avait pas été préparé comme les autres rats par saignée associée à vitamine B 12.

Rat	Poids (g.)	Sérum (en cc)	provenant du rat	18 h. GRP	18 h. Rét.	24 h. GRP	24 h. Rét.	2 j. GRP	2 j. Rét.	3 j. GRP	3 j. Rét.
415	50	1	403	2	*6*	4	*10*	8	*8*		
416	50	1	404	3	*15*	3	*15*	13	*13*		
417	47	1	L 15	1,5	*6*	1,5	*10*	3	*4*		
418	44	1	L 16	0,5	*5*	0,5	*10*	1,5	*13*	5	*13*
419	44	0		2	*3*	3	*3*	3	*3*		

A la 18e heure, chez tous, infection sanguine facile à constater. Cependant elle est la plus faible chez les rats ayant reçu le sérum des deux animaux immuns.

Chez le témoin, de la 18e à la 24e heure, la parasitémie s'élève encore et tous les réticulocytes sont parasités.

Quant aux 415 et 416 (éprouvés avec du sérum prélevé en fin d'infection), la parasitémie ne s'élève pas de la 18e à la 24e heure chez l'un (416), malgré 10 et 15 p. 100 de réticulocytes ; elle s'élève chez l'autre rapidement. Après 48 heures, il y a une augmentation importante du nombre des globules rouges parasités et tous les réticulocytes sont parasités. Donc protection faible chez l'un (416, sérum de 404), non manifeste ou nulle chez le 415 (sérum de 403). Il est à noter que le 403, lors du prélèvement de sang avait une parasitémie de 1 p. 5.000 et le 404 de 1 p. 400 : il s'agissait donc d'infections tout à fait à leur terme.

Sous l'influence du sérum de rats immuns depuis 6 semaines (L 15, L 16), l'infection reste stationnaire entre la 18e et la 24e heure et ensuite s'élève faiblement, eu égard au nombre important de réticulocytes. On est en présence d'une protection manifeste mais assez faible. Toutefois il faut noter que l'injection infectante était plus importante que dans les expériences

précédentes, et Coggeshall et Eaton [14]) ont insisté, dans l'étude du paludisme simien, sur la proportionnalité nécessaire des doses de sérum et d'inoculat.

Expérience 6.

10 rats de 50 grammes environ, chez lesquels on a provoqué une augmentation de la réticulocytose. L'injection infectante (de 20 millions de globules rouges parasités) est réalisée une heure après l'inoculation intrapéritonéale de sérum provenant de rats hyperimmuns.

Rat	Poids (g.)	Sérum (en cc)	provenant du rat	18 h. GRP	18 h. Rét.	24 h. GRP	24 h. Rét.
S 205	55	1	S 76	0,2	*4*	0,1	
S 206	45	0,7	S 4	0,2	*6*	0,05	
S 207	50	1	317	0,1	*5*	0,03	
S 208	42	0,7	211	0,1	*4*	0,1	
S 209	42	0,6	L 15	0,1	*3*	0,1	
S 210	48	1	346	0,1	*6*	0,2	
S 211	55	1	L 16	0,1	*10*	0,05	
S 212	52	1	S 55	0,1	*5*	0,1	
S 213	46	1	neuf	0,2	*3*	1	
S 214	51	1	neuf	0,2	*12*	1	

Rat	Poids (g.)	Sérum (en cc)	provenant du rat	2 j. GRP	2 j. Rét.	3 j. GRP	4 j. GRP	5 j. GRP	8 j. GRP
S 205	55	1	S 76	2	*8*	8			
S 206	45	0,7	S 4	2,5	*6*	10			
S 207	50	1	317	0,7	*8*	3			
S 208	42	0,7	211	0,03	*3*	0,03	0,02	0,03	2
S 209	42	0,6	L 15	0,05	*5*	2			
S 210	48	1	346	0,5	*5*	3			
S 211	55	1	L 16	0,2	*12*	2			
S 212	52	1	S 55	1,5	*5*	4			
S 213	46	1	neuf	2	*3*	4			
S 214	51	1	neuf	8	*8*	5			

Chez tous, la parasitémie est faible à la 18e heure. A la 24e heure, elle s'est élevée chez les témoins, mais non chez les rats qui ont reçu le sérum de rats hyperimmuns ; elle baisse même chez 4 d'entre eux. Le 2e jour, chez 3 animaux (S 205, S 206, S 212), le pouvoir protecteur du sérum n'est plus manifeste ou n'a plus qu'un effet très faible ; tandis que l'effet se prolonge encore une journée chez S 210, S 211, S 209, S 207 et dure chez S 208 pendant plus de 5 jours.

Expérience 7.

Rats d'environ 50 grammes, avec réticulocytose forte ; une heure avant impaludation par 20 millions de globules rouges parasités, ils reçoivent dans la cavité péritonéale 1 cc de sérum. Les deux témoins (L 120 et L 121) reçoivent du sérum de rat neuf ; les L 113 et L 114 reçoivent du sérum prélevé chez les 346 et L 16, 20 jours après la prise de sang qui a servi à l'expérience 6 où a été décelé un pouvoir protecteur ; les L 116 et L 118 reçoivent du sérum prélevé chez les S 4 et 317, rats immuns qui étaient splénectomisés depuis 19 jours sans réveil de la parasitémie (ils n'en ont pas présenté non plus au cours des 30 jours suivants), et dont le sérum, avant ablation de la rate, s'était révélé protecteur (expérience 6). Pour rechercher si la splénectomie ou la simple saignée font baisser le pouvoir protecteur, il n'a pas été fait d'injection de rappel à ces 4 rats : 346, L 16, S 4, 317.

Aucun pouvoir protecteur n'est appréciable dans le sérum du 346, ou peut-être existe-il encore une action très faible puisque le 2e jour il y a des réticulocytes libres en proportion assez importante ; les trois autres sérums ont un pouvoir protecteur manifeste. La splénectomie, non suivie de réveil de paludisme, n'a donc pas provoqué un fléchissement des facteurs de défense humoraux.

Rat	Poids (g.)	Sérum (en cc)	provenant du rat	18 h. GRP	18 h. Rét.	24 h. GRP	24 h. Rét.	2 j. GRP	2 j. Rét.	3 j. GRP	3 j. Rét.
L 113	54	1	346	0,2	5	0,5	5	4	6	5	5
L 114	52	1	L 16	0,05	3	0,1	5	0,1	5	1,5	5
L 116	56	1	S 4	0,05	7	0,2	7	0,7	10	6	6
L 118	45	1	317	0,02	7	0,1	7	0,7	4	1,5	4
L 120	54	1	neuf	0,3	3	0,4		7	7,5	7	
L 121	50	1	neuf	0,3	5	0,7		6	7	8	

Expérience 8.

Dans cette expérience, le sang riche en parasites destiné à l'épreuve a été prélevé chez un rat lors de la crise.

4 rats de 50 grammes sont préparés par saignée-vitamine B 12. Une heure avant l'impaludation, ils reçoivent dans leur cavité péritonéale le sérum à tester ; ce sérum provient de rats à la période de déclin de leur accès de primo-infection (stade IV), présentant une parasitémie de 1 à 4 p. 100 ; les rats 434, 435, 436 reçoivent 1 cc de sérum prélevé respectivement chez

les rats L 51, L 49, P 8 ; au rat 437, on injecte 0,8 cc de sérum de P 11.

Un cinquième rat de 50 grammes (438), dont la réticulocytose n'a pas été artificiellement augmentée et qui ne reçoit aucune injection de sérum, est inoculé, en même temps que les précédents, avec le même matériel infectant et aux mêmes doses : 20 millions de globules rouges parasités prélevés chez un animal à la période de crise de sa primo-infection (stade III).

Les courbes de parasitémie sont les mêmes chez les 5 animaux.

	434		435		436		437		438	
	GRP	Rét.	GRP	Rét.	GRP	Rét.	GRP	Rét.	GRP	Rét.
18 h.	0,3	*10*	0,3	*10*	0,2	*12*	0,3	*10*	0,2	*6*
24 h.	0,2		0,2		0,2		0,2		0,2	
48 h.	3	*10*	3	*10*	2	*15*	3	*15*	3	*10*

Faute de véritable témoin (le 438 n'a pas reçu de sérum de rat neuf), on ne peut tirer de la parasitémie aucun renseignement sur le pouvoir protecteur des sérums employés. Mais il nous a été donné de faire deux constatations :

a) Il n'y a pas eu élévation de la parasitémie entre la 18e et la 24e heure, et seulement élévation faible, par rapport au nombre des réticulocytes, le deuxième jour. Ceci est bien différent de ce que l'on observait dans les expériences précédentes chez les animaux où ne jouait pas le pouvoir protecteur. Ce phénomène nous semble manifester la présence d'un pouvoir opsonisant *in vivo* dans le sang du rat donneur (c'est-à-dire de celui qui a fourni l'inoculat infectant), pouvoir qui se révèle chez les rats receveurs par une action freinatrice sur l'ascension de la parasitémie. Ce pouvoir opsonisant dans le sang prélevé lors de la crise a déjà été vu par A. Zuckerman avec *P. gallinaceum* [101].

b) Chez un des rats (436) ayant reçu du sérum, on a prélevé, par ponction, de la sérosité péritonéale. Celle-ci présentait une densité de macrophages et des images de phagocytose plus marquées que chez le rat 438. Cette augmentation de la réaction macrophagique péritonéale est sans doute un effet du sérum testé.

B. — Commentaires.

I. — *Réalité du pouvoir protecteur.*

Ces diverses expériences mettent en évidence un pouvoir protecteur dans le sérum du rat immun et hyperimmun : un tel sérum a en effet la propriété de ralentir le développement de

l'infection, dans les conditions que nous venons de voir. Ce phénomène a été mis en évidence chez le rat adulte et chez le jeune animal de 50 grammes.

a) *Mise en évidence chez le rat adulte* (Expériences 1 et 2). L'expérimentation sur le rat adulte, avec des injections quotidiennes de sérum provenant d'animaux immuns ou hyperimmuns pendant plusieurs jours, révèle l'existence d'un pouvoir protecteur si l'on compare la parasitémie observée chez le rat ainsi traité avec celle que présentent les témoins inoculés seulement avec du sérum de rats neufs. Le faible degré de parasitémie obtenu durant les 5 ou 6 premiers jours chez les sujets d'expérience contraste nettement avec l'ascension de la courbe d'infection des animaux témoins. L'étude de la courbe parasitémique montre en même temps les limites de cette séro-protection ainsi réalisée : malgré ce traitement avec du sérum immun, la parasitémie s'élève finalement, tout en restant plus discrète que chez les témoins et ne durant pas davantage.

b) *Mise en évidence chez le rat jeune.* L'animal au poids voisin de 50 grammes permet — avantage sur l'adulte — de juger du pouvoir protecteur en utilisant une injection unique de sérum, sous un volume facilement obtenu. Sans sacrifier l'animal, il est en effet aisé de prélever par ponction cardiaque une quantité de sang suffisante pour fournir 1 cc de sérum. L'existence d'un pouvoir protecteur est établie alors en tenant compte non pas seulement de la parasitémie (suffisante à elle seule dans certains cas), mais aussi de la réticulocytose. L'établissement du taux de cette dernière est absolument essentielle dans les cas où la parasitémie atteint un degré voisin chez le rat en expérience et chez le témoin : le parasitisme de tous les réticulocytes chez le témoin alors qu'un nombre appréciable de réticulocytes ne contient pas de plasmodies chez le séro-protégé, montre que le sérum possède des facteurs qui empêchent l'hématozoaire d'attaquer ces globules rouges jeunes si électivement sensibles à son attaque.

II. — *Conditions et technique de mise en évidence du pouvoir protecteur.*

Lorsque l'on utilise l'injection unique de 1 cc de sérum, certaines conditions sont de préférence à réaliser pour obtenir une mise en évidence plus facilement appréciable du pouvoir protecteur. Elles concernent le poids de l'animal, le moment de l'injection du sérum, l'inoculat infectant.

a) *Poids de l'animal.* Il est préférable d'employer un rat jeune, d'un poids de 50 grammes. Ceci présente un double avantage : d'une part le centimètre cube de sérum utilisé, qui en lui-même est un volume bien faible, devient une dose importante eu égard à la faible masse sanguine du petit animal ; d'autre part chez le jeune rat, dont le taux des globules rouges immatures est déjà à l'état normal souvent plus élevé que chez l'adulte, l'augmentation de la réticulocytose est facilement obtenue.

b) *Le sérum à éprouver.* Le sang est prélevé par ponction cardiaque faite, sur l'animal anesthésié à l'éther, avec une aiguille de 6/10 à biseau court. Le sérum est injecté par voie intrapéritonéale à la dose de 1 cc pour 50 grammes de poids.

Le moment de l'injection est important. Dans nos expériences, nous avons constaté que les résultats sont peu nets lorsque le petit rat reçoit le sérum 24 heures après son impaludation (expérience 3) ; avec cette technique, la parasitémie reste importante et seule la présence d'une forte proportion de réticulocytes non parasités signe l'existence d'un pouvoir protecteur. Au contraire, lorsque l'injection de sérum précède d'une heure environ l'inoculation d'hématozoaires, l'élévation de la courbe de parasitémie est très visiblement ralentie pendant 1 à 3 jours dans les cas où existe un pouvoir protecteur marqué (410, 411, 412, 413, 418, S 211, S 210, S 209, S 208, S 207) ; si ce dernier est plus faible, l'étude de la réticulocytose permet alors de le déceler (416, 417, S 205, S 206, S 212).

Il nous semble donc recommandable d'injecter le sérum une heure avant l'impaludation.

c) *L'inoculat : quantité et qualité.* Le nombre d'hématozoaires à employer pour chaque petit rat de 50 grammes doit être assez grand pour provoquer une parasitémie appréciable dans les 24 heures et point trop important sinon le pourcentage, dans le sang, des hématies parasitées est si fort après un jour qu'il risque d'abolir toute différence entre les animaux en expérience et leurs témoins. C'est ainsi que les 40 millions de globules rouges parasités utilisés dans l'expérience 5 ont provoqué chez 3 animaux sur 4 (415, 416, 417) une parasitémie aussi importante que chez le témoin. Avec 30 ou 20 millions (expériences 4 et 6) les écarts entre la parasitémie du rat ayant reçu le sérum à tester et celle du rat témoin sont bien nets ; cependant avec 20 millions l'écart n'est manifeste qu'à partir de 24 heures, avec 30 millions dès la 18e heure. La dose optima infectante à utili-

ser nous paraît donc être entre 20 et 30 millions de globules rouges parasités.

La qualité de l'inoculat a elle aussi son importance. Dans l'expérience 8, le sang infectant avait été prélevé chez un rat au stade de crise (state III) ; le témoin n'avait présenté entre le 1er et le 2e jour qu'une faible élévation de sa parasitémie, en dépit de la présence d'une importante réticulocytose ; nous attribuons ce phénomène à la présence, dans le sérum du donneur au stade de crise, d'un pouvoir opsonisant. Pour éviter ce phénomène, on choisira donc un inoculat prélevé chez un animal en début d'infection, alors que les anticorps opsonisants n'ont eu encore le temps de se développer ; à défaut, il suffirait peut-être de laver les hématozoaires prélevés au stade III, pour éliminer le plasma.

d) *Appréciation du pouvoir protecteur.* Nous recherchons le taux de la parasitémie à la 18e, 24e et 48e heure, puisque c'est le délai pendant lequel peut se manifester un écart entre le degré d'infection sanguine de l'animal testé et celui du témoin : le pouvoir protecteur du sérum est en effet temporaire et bref. L'intérêt d'un frottis sanguin à la 18e heure vient de ce que le pourcentage de globules rouges parasités reste souvent sans changement entre la 18e et la 24e heure quand l'animal est protégé, ou même baisse durant cet intervalle de temps (cf. par exemple expérience 6), alors qu'il monte de façon appréciable chez le témoin. Dans certains cas « limites » l'absence d'ascension de la parasitémie entre la 18e et la 24e heure chez le jeune rat qui a reçu le sérum à éprouver, alors que la parasitémie augmente chez son témoin, peut déceler un faible pouvoir protecteur (vg. rat 416 de l'expérience 5).

Il est utile de suivre en même temps le taux de la réticulocytose sanguine ; la connaissance de cette dernière est même parfois indispensable pour interpréter les résultats obtenus.

En effet, l'action protectrice du sérum est parfois bien évidente : l'animal présente une parasitémie nettement plus faible que le témoin (et il y a dissociation parasito-réticulocytaire, c'est-à-dire présence d'une forte proportion de réticulocytes non parasités). Exemple : les animaux de l'expérience 4. Il y a par contre des cas où, à simple lecture de la parasitémie, on pourrait contester l'existence d'un pouvoir protecteur. Dans ces cas litigieux, on doit recourir, pour le diagnostic, à la réticulocytose. Parasitisme de toutes les hématies immatures chez le témoin, nombreux réticulocytes libres chez l'animal en expérience sont

(à parasitémie égale chez l'un et l'autre rat) la signature de l'existence d'une protection faible mais certaine. L'étude de la réaction macrophagique observée dans la sérosité péritonéale, après 24 heures, nous a aussi permis, dans le cas de l'animal 436 (ce fut le seul animal chez lequel nous avions recherché ce phénomène), d'observer une plus forte réaction macrophagique chez l'animal en expérience que chez son témoin.

Et si l'on compare les résultats obtenus avec nos divers sérums, ces premières expériences semblent montrer (mais il faudrait une expérimentation plus étendue pour pouvoir l'affirmer absolument) qu'il serait possible de distinguer des *degrés* dans le pouvoir protecteur. C'est ainsi que l'on a eu un pouvoir protecteur très faible avec des sérums prélevés chez des animaux au stade IV (rats 403 et 404 de l'expérience 5), plus net chez les immuns (vg. rats L 15, L 16 de l'expérience 5), très net chez les hyperimmuns.

e) *En résumé.* Ces expériences de séro-protection fournissent un test qui permet de réaliser en 48 heures la recherche d'un pouvoir protecteur dans le sérum. La quantité de sérum nécessaire (1 cc) est suffisamment faible pour être obtenue assez aisément par simple ponction cardiaque, sans sacrifier l'animal. La technique la meilleure nous semble être d'utiliser des rats de 50 grammes, recevant dans leur cavité péritonéale 1 cc du sérum à étudier puis, une heure après, 30 millions de globules rouges parasités prélevés chez un animal en début d'infection : l'examen de la parasitémie et de la réticulocytose se fait à 18, 24, 48 et éventuellement 72 heures. La protection se manifeste par un taux plus faible de parasitémie (durant 1 à 3 jours), avec dissociation réticulo-parasitaire, ou par une simple dissociation réticulo-parasitaire, ou quelquefois se borne à une réaction macrophagique plus importante dans la sérosité péritonéale (cette réaction de la séreuse péritonéale est étudiée plus en détail infra) ; l'importance de la protection peut sans doute permettre d'établir des nuances entre la richesse en anticorps des divers sérums, suivant que la parasitémie reste basse plus ou moins longtemps, ou que seule la réticulocytose ou l'étude de la sérosité péritonéale prélevée après 24 heures manifestent la différence de comportement, en face de l'agression parasitaire, de l'animal qui a reçu du sérum et de son témoin.

III. — *Caractères du pouvoir protecteur.*

a) *Durée de son action,* après injection unique. Le sérum, doué d'un pouvoir protecteur, manifeste son action protégeante pendant une durée assez courte seulement : 1 à 3 jours (vg. 3 jours : expérience 4 ; 1 jour : rats 205, 206, 212). Toutes choses égales (inoculat, intervalle entre l'injection de sérum et l'impaludation), le plus ou moins long temps de protection permet sans doute de comparer entre eux plusieurs sérums au point de vue de leur force de protection.

b) *Efficacité du pouvoir protecteur :*

1. Elle n'est pas grande, puisqu'il faut des doses aussi énormes qu'un cc de sérum pour protéger légèrement un animal de 50 grammes. Ce n'est point pour étonner, puisque l'on sait les doses importantes et répétées plusieurs jours employées aussi par Coggeshall et Kumm, qui les premiers mirent en évidence un pouvoir protecteur dans le sérum d'un animal paludéen (singe rhésus avec *P. knowlesi* et *P. inui*) [13].

2. Comme nous venons de le dire, la protection n'est pas aussi marquée avec les divers sérums : il existe des degrés dans la séro-protection.

3. La protection apportée par le sérum s'épuise quand on répète les injections. La sérothérapie, pratiquée quotidiennement pendant les 4 et 7 premiers jours de l'infection chez des rats adultes (expériences 2 et 1), maintient d'abord la parasitémie à un taux peu élevé, mais après un certain temps (6 jours dans l'expérience 1. 5 jours dans l'expérience 2) la parasitémie augmente en dépit du traitement. Cependant le maximum de la parasitémie sera faible et l'infection ne durera pas davantage que chez le témoin.

4. Le pouvoir protecteur selon les stades de l'infection. Nos expériences de séro-protection sont encore trop peu nombreuses pour juger des variations du pouvoir protecteur du sérum en fonction du stade de l'infection. Cependant elles fournissent quelques faits. Parmi les animaux dont nous avons testé le sérum, deux étaient aux derniers jours de la période de déclin de leur accès aigu de primo-infection : le pouvoir protecteur de leur sérum s'est montré nul chez l'un (403), très faible chez l'autre (404). Indirectement, — car ce n'était pas le but recherché dans l'expérience —, l'expérience 8 semble mettre en évi-

dence la présence d'un pouvoir opsonisant dans le sérum des rats au stade IV, comme nous l'avons signalé lorsque nous rapportions les résultats des rats 434, 435, 436, 437, 438. Enfin, au stade d'infection latente le pouvoir protecteur est assez faible, mais net, chez les immuns (L 15, L 16 de l'expérience 5), très net chez les hyperimmuns.

5. Renforcement du pouvoir protecteur par réinoculations. Dans un chapitre précédent, nous avons montré que, par la méthode des réinoculations intrapéritonéales massives, on réalise et on met en évidence une augmentation de l'immunité sous l'influence de réinoculations. Les rats L 15 et L 16 ont subi deux fois un prélèvement de sérum ; lors du premier prélèvement ils relevaient de leur primo-infection ; lors de leur deuxième prélèvement, ils avaient eu entre temps une injection intrapéritonéale massive d'hématozoaires : ils étaient donc devenus hyperimmuns, comme nous l'avons montré ailleurs. Or, à ce renforcement de l'immunité ainsi réalisé, correspond parallèlement une augmentation du pouvoir protecteur de leur sérum. Le test de séro-protection réalisé avec leur sérum, alors qu'ils étaient simplement immuns, chez les petits rats 417-418 montre un assez faible pouvoir protecteur (expérience 5) ; réalisé avec leur sérum devenu hyperimmun, le pouvoir protecteur est manifestement augmenté (rats S 209, S 211 de l'expérience 6).

De l'exemple des rats L 15 et L 16, on peut déduire que le renforcement de l'immunité par des réinoculations a correspondu chez eux à une augmentation des facteurs humoraux ; et cela est en accord avec ce que nous avaient montré les expériences de splénectomie : chez le rat hyperimmun, la splénectomie mettait en évidence l'existence d'une augmentation de facteurs de résistance extraspléniques ; ces facteurs extraspléniques étaient-ils humoraux ou (comme le disait Corradetti) étaient-ils une simple fonction de suppléance des autres parties du système réticuloendothélial : les résultats obtenus par splénectomie ne permettaient pas de le dire, mais les tests de séro-protection appliqués chez L 15 et L 16 permettent d'affirmer que parmi ces facteurs extraspléniques une part importante est due à des facteurs humoraux.

6. Recherche de l'influence éventuelle de la saignée et de la splénectomie. Notre expérimentation est encore trop peu importante pour aboutir à des conclusions fermes. Cependant nous pouvons déjà indiquer les résultats suivants :

— Nous avons recherché si la saignée abondante qui ser-

vait à recueillir le sang d'un rat ne faisait pas fléchir à elle seule le pouvoir protecteur du sérum de cet animal dans les jours qui suivent. Cette expérience préliminaire était indispensable car, si l'on veut juger l'action éventuelle de la splénectomie il faut d'abord s'assurer que la seule prise de sang ne provoque pas de modification. Cette recherche a été faite sur 2 rats (expérience 7), et nous avons constaté que, trois semaines après une prise de sang importante (2 cc environ), le pouvoir protecteur du sérum s'était maintenu sans changement chez un animal et avait considérablement baissé chez l'autre. Il faudra certes répéter ces expériences, ne serait-ce que pour apprécier la fréquence de cette baisse, faire la part de ce qui revient à la saignée ou au temps.

— Nous avons aussi étudié l'influence éventuelle de la splénectomie, pour essayer de comprendre le mécanisme éventuel de la rechute après ablation de la rate. Deux rats hyperimmuns (S 4 et 317, expérience 7) chez lesquels la splénectomie n'avait pas provoqué de réveil du paludisme (sur les frottis sanguins on ne décela aucun hématozoaire pendant les 50 jours qui suivirent l'ablation de la rate), n'ont montré aucune baisse du pouvoir protecteur 19 jours après la splénectomie. Il faudra évidemment répéter ces recherches sur un plus grand nombre d'animaux pour en déduire des conclusions plus fermes.

§ II. — La phagocytose.

La phagocytose s'avère dans tous les paludismes comme un phénomène de premier plan. Les plus anciennes observations reconnaissaient son importance, telles celles de Golgi (1886), de Metchnikoff (1887) et, depuis, l'on a « démontré de façon certaine que des macrophages phagocytent des globules rouges parasités, des parasites libres, du pigment malarique et autres débris malariques » [76].

Chez le rat infecté par *P. berghei,* on retrouve également ces phénomènes de phagocytose. Macroscopiquement, la rate est augmentée de volume : elle triple ou quadruple son poids et même davantage. Histologiquement, on constate une réaction réticuloendothéliale importante dans le foie et la rate. Sur frottis d'organes, on observe constamment, — dans le foie surtout, dans les poumons, la rate, la moelle osseuse —, de très nombreuses images de phagocytose : les macrophages contiennent des grains de pigment, et souvent des hématozoaires libres

et des globules rouges, mais l'on ne voit pas de globules rouges parasités à l'intérieur de cellules phagocytaires. L'examen du sang montre quelquefois, à la phase maxima de la parasitémie, des monocytes contenant quelques grains d'hémozoïne ou des plasmodies [49, 35].

Nous allons insister plus particulièrement, dans cette étude de la phagocytose, sur des expériences réalisées avec G. Fabiani, qui mettent en évidence la phagocytose des parasites en étudiant le comportement des hématozoaires de réinoculation dans la cavité péritonéale de rats guéris [42].

L'inoculation de globules rouges parasités par *P. berghei* dans le péritoine du Rat blanc détermine régulièrement l'infection sanguine ; en recourant à l'injection de quantités massives d'hématozoaires, nous avons pu constater que les hématies parasitées inoculées traversent la séreuse et peuvent être ensuite décelées dans le sang où les plasmodies se multiplieront. On sait aussi que le rat guéri d'une infection première est ensuite résistant à des réinoculations. Mais, si l'on recourt à une inoculation d'une quantité très importante de globules rouges parasités dans le péritoine d'un rat immun, on observe que la traversée péritonéale est plus faible, plus brève et peut même manquer. N'étudiant ici que le passage des globules rouges parasités à travers la séreuse, nous ne citerons pas le chiffre global de la parasitémie mais uniquement celui des hématies polychromatophiles parasitées, en ne tenant pas compte des hématozoaires jeunes qui proviennent de la multiplication des parasites introduits :

Rats	Hématies polychromatophiles parasitées provenant du rat « donneur » et décelées dans le sang périphérique du « receveur » (p. 10.000 GR)				
	1 h.	3 h.	6 h.	15 h.	24 h.
181 (neuf)	2	9	10	7	0
170 (immun)	2	6	4	0	0
33 (immun)	0	0	0	0	0

Quel a donc été le sort des hématozoaires introduits dans le péritoine ? Par quel mécanisme ont-ils été arrêtés ou détruits ? On peut, dans cette cavité relativement close qu'est le péritoine où les hématies parasitées persistent assez longtemps, étudier les processus immunitaires, en particulier l'intervention possible des deux facteurs — cellulaire et humoral — qui ont été tous deux invoqués pour expliquer l'immunité antimalarique.

Il est donc possible de rechercher s'il y a arrêt de la multiplication des Plasmodies, altération morphologique traduisant une influence humorale néfaste, ou même s'il y a lyse et production d'un véritable phénomène de Pfeiffer : on peut observer s'il y a phagocytose rapide et importante. C'est ce que nous avons recherché avec G. Fabiani [42].

Première expérience.

Deux rats hyperimmuns (rats guéris de l'infection première dont l'immunité a été renforcée par plusieurs réinoculations) ont reçu dans la cavité péritonéale une quantité importante de globules rouges parasités (plusieurs centaines de millions) dans un volume égal d'eau citratée, en même temps qu'un troisième rat, neuf, qui servait de témoin. Un quatrième rat, hyperimmun, recevait une quantité équivalente de globules rouges normaux. La sérosité péritonéale a été recueillie à la 4e et 6e heure par ponction, puis à la 22e heure ; il a été alors nécessaire de faire une laparatomie pour obtenir une quantité suffisante de sérosité. Des frottis ont été pratiqués et colorés par la technique habituelle (May-Grunwald, Giemsa).

A la 4e et 6e heure, les résultats sont identiques chez les trois animaux ayant reçu des hématozoaires. Les hématies normales ou parasitées sont libres, non agglutinées ; il n'y a pas d'altération morphologique des plasmodies. On n'observe que de rares macrophages, sans image de phagocytose de globules rouges ni d'hématozoaires.

A la 22e heure, chez les deux premiers rats, réaction macrophagique intense, avec nombreuses images de phagocytose ; on voit à l'intérieur des cellules phagocytaires des rosaces, des mérozoïtes isolés et des hématies normales non parasitées ; les images de phagocytose d'hématies parasitées sont très rares. Par contre il n'y a aucune altération morphologique des hématozoaires ; entre les macrophages, les hématies normales ou parasitées sont intactes et ne sont pas agglutinées ; dans les globules rouges, les hématozoaires apparaissent intacts ; il y a de nombreuses rosaces. Signalons aussi une importante réaction fibrineuse et la très grande rareté des leucocytes éosinophiles.

Chez le troisième rat (animal neuf, ayant reçu une injection de globules rouges parasités), les hématozoaires ont la même apparence normale. Les macrophages sont peu nombreux et il n'y a que peu d'images de phagocytose d'hématies normales : les hématozoaires ou les globules rouges parasités ne sont pas

phagocytés. Les leucocytes éosinophiles sont nombreux. Il n'y a pas de réaction fibrineuse.

Enfin l'examen de la sérosité péritonéale du rat hyperimmun ayant reçu l'injection de globules rouges normaux ne montre qu'une faible quantité de macrophages ; quelques hématies sont phagocytées ; les éosinophiles sont nombreux ; il n'y a pas de réaction fibrineuse.

Deuxième expérience.

Pour essayer de provoquer une phagocytose plus intense ou plus rapide, nous avons préparé le péritoine en injectant 3 cc de bouillon peptoné stérile dans le péritoine de deux rats hyperimmuns et d'un rat neuf. L'inoculation de globules rouges parasités a été pratiquée 18 heures plus tard. La sérosité péritonéale a été prélevée 4 heures et 24 heures après l'inoculation.

A la 4e heure, on voit dans la sérosité péritonéale des rats hyperimmuns : nombreux polynucléaires et macrophages en quantité sensiblement égale ; quelques images de phagocytose d'hématies normales par les macrophages seulement ; réaction fibrineuse importante ; il n'y a pas de leucocytes éosinophiles. Chez le rat neuf, il y a aussi beaucoup de polynucléaires neutrophiles, mais peu de macrophages, pas d'images de phagocytose, pas de réaction fibrineuse, nombreux leucocytes éosinophiles.

A la 24e heure, il y a encore des polynucléaires et des macrophages chez les trois animaux, mais les hématozoaires sont devenus très rares.

La réaction macrophagique a donc été, dans cette expérience, comparable à celle de l'expérience précédente. Les différences observées consistent en une plus grand rapidité de la réponse cellulaire et de la diminution du nombre des parasites, et en une forte leucocytose polynucléaire locale, qui ne semble pas intervenir dans la destruction des parasites.

Discussion. — Ces expériences montrent que les parasites introduits dans la séreuse péritonéale du rat immun ne sont pas lysés, ne présentent pas d'altérations morphologiques et que l'évolution schizogonique se poursuit au moins pendant plusieurs heures. Nous n'avons même pas observé d'agglutination des hématies (l'addition de citrate de sodium l'a peut-être gênée). A ce résultat négatif s'opposent deux constatations positives chez l'animal immunisé : la réaction macrophagique et la phagocytose. Ces phénomènes, dont il faudrait dans des expériences ultérieures

préciser les modalités, sont très nets et importants. Ils expliquent que les hématies parasitées introduites par voie péritonéale ne passent qu'en petit nombre dans le sang et pendant quelques heures seulement, et que cette traversée péritonéale puisse même manquer. Ils démontrent la réalité du processus phagocytaire et son intervention dans l'immunité que le Rat acquiert contre *P. berghei*. Rappelons que lors de la crise ou du déclin de l'infection aiguë nous avons observé, dans la rate et surtout dans le foie, de nombreuses images de phagocytose d'hématozoaires, et aussi d'hématies libres [35]. Ce mécanisme phagocytaire a été mis en évidence dans le cas d'autres paludismes, simiens ou aviaires, et W. H. Taliaferro et Cannon en ont fait une étude approfondie ; ces auteurs ont aussi insisté sur cette réaction macrophagique que nous retrouvons dans le cas de l'infection à *P. berghei*, et ils ont montré que le système macrophagique répond immédiatement lors des surinfections [9, 75, 76, 82]. Signalons aussi cette phagocytose des hématies normales, que A. Zuckermann a minutieusement étudiée chez les Oiseaux [101.] Sans discuter ici son mécanisme, soulignons seulement la conséquence qu'elle peut avoir : elle est probablement en grande partie responsable de cette anémie intense et rapide qui se produit chez le Rat impaludé [35] et que ne peut expliquer la seule destruction des hématies parasitées.

Cette étude de la sérosité péritonéale présente donc une épreuve d'immunité, qui a le mérite d'être aisée, d'interprétation facile et de montrer l'importance de la réaction cellulaire.

Ces faits ne sont pas en contradiction avec le rôle des humeurs dont nous avons démontré l'existence dans les pages précédentes. Ce pouvoir protecteur du sérum d'animaux immuns agit donc essentiellement en favorisant la phagocytose. L'intervention d'une telle action opsonisante a déjà été démontrée dans d'autres infections plasmodiales (Coggeshall et Kumm, Taliaferro, Zuckermann,...).

Nous signalerons aussi les premières constatations qu'il nous a été donné de faire — bien que l'étude en soit pour l'instant à peine ébauchée — relatives à la réaction macrophagique péritonéale, dans le cas du transfert passif de l'immunité par injection de sérum hyperimmun dans la cavité péritonéale du jeune rat neuf. Des rats de 50 grammes reçoivent en injection intrapéritonéale 1 cc de sérum une heure avant impaludation ; cette dernière est réalisée au moyen d'un inoculat infectant contenant plusieurs centaines de millions de globules rouges parasités. 24 heures après l'impaludation, on fait un prélève-

ment, par laparatomie, et un examen microscopique de la sérosité. Notre expérimentation porte sur un lot de 7 animaux neufs de 50 grammes, dont 5 reçoivent du sérum hyperimmun et 2 du sérum normal : les globules rouges parasités, qui servent à l'impaludation, sont lavés à l'eau citratée pour éliminer le plasma et donc les facteurs humoraux qui se trouvent dans le sang de l'animal chez lequel est prélevé l'inoculat infectant. La lecture des frottis ne montre pas de lyse des parasites, ni d'altération morphologique de ceux-ci ; les hématozoaires au contraire se sont développés normalement comme l'indique la présence d'assez nombreuses rosaces, qui contiennent une proportion normale de mérozoïtes. La réaction macrophagique est importante chez tous les animaux. La phagocytose, semblable à celle que nous venons de décrire, est plus marquée chez les animaux qui ont reçu du sérum hyperimmun. Le sérum hyperimmun provoquerait donc une phagocytose plus importante.

Ces deux grands processus, cellulaire et humoral, de l'immunité interviennent donc dans le paludisme comme dans la majorité des maladies infectieuses.

TROISIEME PARTIE

COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

CHAPITRE PREMIER

Les caractères généraux de l'immunité dans les divers paludismes

Pour mieux dégager la portée des phénomènes immunologiques observés dans le paludisme du Rat blanc à *P. berghei*, il importe de rappeler les caractères essentiels des infections plasmodiales, en insistant sur les notions bien établies dans le domaine de l'immunité. Nous en ferons une brève revue générale en nous inspirant principalement des travaux classiques d'immunologistes ou de spécialistes du paludisme, en particulier W. H. Taliaferro [75 à 88], M. F. Boyd [6, 7], M. Ciuca [10], E. Brumpt [8], J. Bordet [5], Edm. Sergent [65 à 72], A. Corradetti [16 à 20], J. T. Culbertson [23], M. Vaucel [97].

Il nous paraît inutile d'insister ici sur la position générale du paludisme à *P. berghei* parmi les autres affections parasitaires des hématies, ni sur les caractères du paludisme du Rat par rapport aux infections produites par cet hématozoaire, chez d'autres espèces animales, ce qui se trouve exposé dans la thèse de P. Grellet [49] et dans notre mémoire à la Société de Pathologie exotique [35].

A. — Guérison, rechutes, résistance aux surinfections.

Chez l'animal ou l'Homme impaludé, la maladie présente d'abord une phase silencieuse : période d'incubation (Sergent), période prépatente (James, Taliaferro) ; puis surviennent des phénomènes aigus, l'« accès aigu fébrile » chez l'Homme (Sergent), où W. H. Taliaferro distingue la période d'élévation

aiguë de l'infection, l'acmé de parasitémie, le déclin de la parasitémie qui, lorsqu'il est suffisamment rapide mérite le nom de « crise ». Alors fait suite une période chronique pendant laquelle les parasites peuvent être encore décelés dans le sang, généralement en petit nombre, puis une période de latence (« infection latente métacritique ») qui peut être coupée de rechutes jusqu'à la disparition totale du parasite de l'organisme.

Toutefois la guérison spontanée n'est pas constante. Dans les divers paludismes, le taux de mortalité est variable suivant le parasite et suivant l'hôte chez lequel il se développe. Alors que *P. knowlesi* provoque régulièrement la mort du singe *Rhesus* et *P. berghei* celui de la Souris, que la maladie est souvent mortelle chez l'Homme par *P. falciparum*, l'accès de primo-infection est jugulé dans une proportion de cas divers au cours des impaludations par *P. brasilianum*, *P. cynomolgi* chez les Singes, *P. gallinaceum*, *P. lophurae*, *P. relictum* chez les Oiseaux, *P. vivax* et *P. malariae* chez l'Homme. Enfin l'infection peut parfois être latente d'emblée (*P. relictum*, par exemple).

Lorsque l'accès aigu de primo-infection est terminé, l'infection peut soit persister à l'état latent jusqu'à la disparition totale de l'hématozoaire de l'organisme, soit se manifester par des rechutes spontanées. C'est ainsi, outre les paludismes humains, que l'on observe des rechutes avec *P. cynomolgi* (singe *Rhesus*), *P. gallinaceum* et *P. lophurae* (poulets), *P. relictum* (passereaux).

Dans tous ces paludismes — et c'est un caractère essentiel de l'immunité palustre — après terminaison de l'accès de primo-infection et pendant un temps plus ou moins long, on observe une résistance aux surinfections par la même souche ; cette résistance dure au moins aussi longtemps que la présence du parasite dans l'organisme. Très forte chez les Oiseaux et chez les Singes, cette résistance aux surinfections est moins marquée chez l'Homme, mais elle existe de façon indubitable lorsqu'on laisse évoluer plusieurs accès.

Cette résistance aux surinfections peut se fortifier en répétant les réinoculations infectantes avec la même souche. Chez l'Homme, Ciuca trouve que l'immunité augmente de 34 à 100 % au cours de 5 inoculations par *P. vivax*, de 36 à 100 % au cours de 7 inoculations par *P. malariae*, et de 22 à 97 % au cours de 10 inoculations par *P. falciparum*. Chez les Oiseaux, Taliaferro constate que « l'hyperimmunisation par surinfections répétées fortifie l'immunité contre *P. lophurae* mais pas contre *P. gallinaceum* » [87].

B. — L'immunité naturelle.

Il existe, même dans les espèces les plus réceptives aux hématozoaires, un certain degré d'immunité naturelle, innée, qui aboutit à la destruction d'un certain nombre d'hématozoaires introduits dans l'organisme et ensuite d'une proportion plus ou moins forte de mérozoïtes libérés à chaque rupture de rosaces.

Un mode d'exploration, mis au point et très employé par les auteurs américains (W. H. et L. G. Taliaferro, Boyd et Allen, Hartmann, Cannon), a permis de mettre en évidence l'immunité naturelle (due à des facteurs non spécifiques) et d'étudier ses effets sur le parasite dans les paludismes simiens et aviaires. Nous nous inspirerons pour la rédaction de ce paragraphe principalement des publications de W. H. et L. G. Taliaferro. Leur technique de base est la suivante : elle consiste à établir le nombre moyen de mérozoïtes produits par les rosaces à chaque cycle, la durée du cycle et le taux de la parasitémie. Le décompte des mérozoïtes et la connaissance de la longueur du cycle asexué fournit le taux de reproduction des parasites ; et en comparant à ce dernier le pourcentage des parasites contenus dans le sang, on infère le taux de survivance ou de destruction des mérozoïtes libérés à chaque segmentation. Une destruction de mérozoïtes indique un effet « plasmodicide » ; une diminution du nombre des mérozoïtes par rosace indique l'action de facteurs qui inhibent la reproduction : « reproduction-inhibiting effect ».

Evidemment, ce taux de destruction n'est pas le même avec les diverses espèces d'hématozoaires ; au tout début de l'infection, le nombre de parasites qui meurt représente environ les 2/3 des mérozoïtes formés dans les rosaces chez *P. brasilianum*, *P. lophurae* et *P. cathemerium* ; le 1/3 chez *P. gallinaceum* ; chez *P. cynomolgi* et *P. knowlesi* la survivance des parasites est pratiquement de 100 % au commencement de l'infection, puis elle décroît rapidement jusqu'à atteindre un chiffre extrêmement bas.

Ce pouvoir « plasmodicide » n'est pas dû à la rate comme il découle des résultats observés sur la parasitémie : d'une part après splénectomie précédant l'impaludation par *P. lophurae* ou *P. gallinaceum* (Terzian, Taliaferro), d'autre part après stimulation de la rate (en même temps que de tous les autres organes lympho-macrophagiques) de manière non spécifique par du sérum de mouton. Le blocage du système réticulo-endothélial

par injection intraveineuse de globules rouges (Gingrich, avec *P. cathemerium* chez le canaris), la destruction des lymphocytes par moutarde azotée (W. H. et L. G. Taliaferro avec *P. gallinaceum* et *P. lophurae*) n'affectent pas non plus l'immunité naturelle.

Le mécanisme de cette plus ou moins grande résistance innée n'est donc pas élucidé. Toutefois, on a pu constater dans certains cas que la réceptivité de l'organisme est liée à une affinité plus grande des parasites pour les hématies mûres ou, au contraire, immatures (réticulocytes) ; nous y reviendrons plus loin.

C. — L'immunité acquise.

1. Lorsque apparaît l'immunité acquise au cours de l'accès de primo-infection, le taux de destruction des parasites augmente considérablement. La phagocytose joue un très grand rôle et se manifeste surtout dans le foie, la rate, la moelle. On assiste, au moins au moment de la crise (quand elle se produit), à une diminution du nombre des mérozoïtes par rosace. Il y a apparition dans le sang de formes de souffrance (« crisis forms »), c'est-à-dire d'hématozoaires présentant des anomalies tinctoriales et morphologiques dues sans doute à une diminution de leur vitalité.

2. *a*) Le temps nécessaire pour la constitution de l'immunité acquise diffère selon les espèces plasmodiales. L'immunité s'établit rapidement avec *P. lophurae*, avec quelques infections à *P. brasilianum* ; progressivement, graduellement avec *P. gallinaceum*, *P. cathemerium*, *P. cynomolgi*.

b) Variable aussi suivant les espèces est le degré de cette immunité. C'est ainsi qu'il est bas chez *P. cynomolgi* et si faible chez *P. knowlesi* qu'il n'empêche pas la mort de survenir. *P. vivax*, *P. malariae*, *P. brasilianum* ne donnent qu'une faible et courte immunité ; par contre, *P. cathemerium* et *P. lophurae* produisent une très forte immunité.

c) Cette immunité acquise est le plus souvent très étroitement spécifique, à tel point même que parfois elle n'existe que vis-à-vis de la même souche. Mais il faut remarquer que cette étroite spécificité se voit surtout chez l'Homme et le Singe ; chez l'Oiseau, on a souvent trouvé une immunité pour un *Plasmodium* d'une espèce différente.

3. Dans cette immunité acquise, un rôle important est joué par des organes ou des systèmes cellulaires qui n'interviennent pas dans l'immunité naturelle :

a) Au premier plan se situe la rate. En l'absence de rate, par exemple, la guérison ne survient pas dans le paludisme à *P. gallinaceum* (Taliaferro), l'infection est généralement plus sévère chez diverses espèces de singes impaludés par *P. inui* (Krishnan). Enfin il est à peine besoin d'insister sur les rechutes qui se produisent après splénectomie observées tant en pathologie expérimentale qu'en clinique humaine.

b) Le système réticulo-endothélial : le blocage au moyen d'hématies étrangères diminue l'immunité acquise (Gingrich, avec *P. cathemerium*, en 1941).

c) Les lymphocytes : la moutarde nitrogénée, qui provoque une fonte des lymphocytes, provoque aussi un fléchissement de l'immunité spécifique (W. H. et L. G. Taliaferro, avec *P. gallinaceum* et *P. lophurae*).

4. *Mécanisme de l'immunité acquise.* Comme dans toute maladie infectieuse, on a mis en évidence un mécanisme cellulaire et un mécanisme humoral. Le rôle cellulaire a pendant longtemps été le seul connu ; l'action humorale, démontrée de façon péremptoire depuis peu, est encore en pleine étude.

a) Base cellulaire de l'immunité antimalarique. L'importance de la phagocytose est montrée :

— macroscopiquement par l'augmentation considérable du volume de la rate. C'est ainsi que chez les passereaux infectés par *P. relictum* le volume de la rate passe de 4 mm × 0,4 mm à 12 mm × 6 mm par exemple, et son poids peut atteindre plus de 50 fois son poids primitif (Edm. Sergent) [70]. Cette hypertrophie splénique est due non seulement à une congestion de l'organe mais aussi à une hyperplasie réticulo-endothéliale, donc de cellules douées d'aptitudes phagocytaires.

— histologiquement, par l'étude des tissus (surtout de la rate) chez des animaux impaludés sacrifiés à des stades variables de leur primo-infection ou en cours de leur réinoculation. Ces études (Cannon et Taliaferro avec *P. cathemerium* et *P. brasilianum*) montrent un grand accroissement de la phagocytose au moment de l'acquisition de l'immunité et lors des surinfections chez les animaux immuns. Les cellules impliquées dans la phagocytose sont des macrophages ; exceptionnellement on voit quelques figures de phagocytose par des leucocytes polynucléaires. L'origine principale de ces macrophages est rapportée par quelques auteurs (Taliaferro et Cannon) au système lymphoïde, d'où l'expression de système lympho-macrophagique qu'emploient ces auteurs.

b) Base humorale de l'immunité acquise.

— L'existence de facteurs humoraux a été pour la première fois mise en évidence de façon certaine lorsque Coggeshall et Kumm (1937) ont réalisé une protection du singe *Rhesus* infecté par *P. knowlesi* au moyen de sérum d'animal immun. Depuis, d'autre travaux ont montré que dans quelques autres paludismes animaux un tel mécanisme intervient.

— Les recherches sur la nature des anticorps efficaces a permis de mettre en évidence *in vitro* des *opsonines* dans le sérum de poulets hyperimmunisés par surinfections répétées avec *P. gallinaceum* et *P. lophurae* (Zuckermann 1945). Elles expliquent sans doute la phagocytose intense au cours de l'immunité acquise. Mais, à propos de ces opsonines trouvées par Zuckermann, Taliaferro, au IV[e] Congrès International de Médecine Tropicale et du Paludisme, écrit qu'elles « agissent comme des isohemopsonines et pourraient résulter de ce que cet auteur emploie des transfusions sanguines d'un poulet à l'autre au cours de ses techniques d'immunisation ».

— On a démontré aussi *in vitro* la présence d'agglutinines spécifiques d'espèce (Eaton, 1938, avec *P. knowlesi*) ; on les retrouve dans divers paludismes ; elles agiraient seulement sur les parasites de grande taille, c'est-à-dire près de leur maturité.

5. *Durée de l'immunité et durée de l'infection.*

a) Durée de l'infection. La durée de la persistance du *Plasmodium* dans l'organisme est variable dans chaque espèce plasmodiale et souvent difficile à établir ; mais l'infection latente finit par disparaître après un temps plus ou moins long.

Chez l'Homme, comme l'indiquent R. Mandoul et A. Pestre, « le paludisme à *P. falciparum* est une maladie aiguë qui s'éteint dans le courant de l'année qui suit l'impaludation. Le paludisme à *P. vivax* provoque une infection latente d'une durée moyenne de deux ans. Dans le paludisme à *P. malariae,* l'infection latente peut se prolonger davantage avant de disparaître spontanément » [56]. De même E. Brumpt écrivait : la longévité du *P. falciparum* dans l'organisme « est assez faible : on peut admettre qu'il disparaît spontanément du sang en 6 à 12 mois si les malades ont été retirés de la zone endémique » [8].

Avec le *P. cynomogi*, l'infection latente durerait un an ; avec *P. gallinaceum* jusqu'à deux ans et demi ; avec *P. lophurae* au moins un an et demi.

Dans d'autres cas, le parasitisme survit pratiquement toute la vie de l'animal : chez le passereau infecté par *P. relictum*. « Au cours de milliers d'expériences que nous poursuivons « depuis 47 ans sur le paludisme des oiseaux à *P. relictum* », écrit Edm. Sergent, « nous n'avons pas observé un seul cas « de disparition complète de parasites chez les sujets ayant sur- « monté et terminé leur accès aigu de première invasion. Jamais « l'organisme n'est complètement stérilisé. Il n'est plus malade « mais il reste infecté » [70].

b) Durée de l'immunité. La durée de la résistance aux surinfections est en général d'une durée aussi longue que celle de la persistance du parasite dans l'hôte. C'est en se fondant sur de pareilles constatations que Edm. Sergent admet que cette immunité est non seulement créée par le parasite, mais entretenue par lui, et que la disparition de ce dernier entraîne la disparition de l'immunité spécifique. A la notion d'« immunité tolérance » proposée par Mesnil, succède donc la notion de *prémunition*, d'une grande portée générale. L'infection latente métacritique est cette « période d'équilibre entre l'hôte et le parasite » ; « si l'on inocule au porteur de germes, au stade latent méta- « critique..., un microbe virulent de même espèce, ce microbe « virulent n'ajoute pas son action à celle du microbe latent ; « la « place reste au premier occupant ». C'est ce que nous avons « appelé la « loi de préséance ». « Pendant cette période de micro- « bisme occulte... l'organisme présente une résistance marquée « aux surinfections, mais, quand il est délivré totalement des « microbes, il redevient sensible à une réinoculation » [70].

Certains auteurs [76] pensent que la résistance aux surinfections persiste probablement un temps variable après la mort du parasite. C'est ainsi que Coggeshall et Maier, avec *P. knowlesi*, constatent sa persistance de 3 à 14 mois après complète stérilisation par sulfanilamide ou sulfathiazol. Boyd et al. la retrouvent avec une souche de *P. vivax*, 3 ans et demi et 7 ans après l'attaque primaire, alors que l'on ne pouvait mettre en évidence la persistance d'une infection latente.

6. *Vaccination*. Chez l'homme, les essais de vaccination se sont montrés infructueux ou ont donné des résultats discutables [76].

Chez l'animal, des résultats satisfaisants déjà, ou au moins prometteurs, ont été obtenus ces dernières années. Comme antigène on a utilisé le plus souvent les formes érythrocytaires des hématozoaires, quelquefois aussi des sporozoïtes. C'est ainsi

que Gingrich (1941) obtient un haut degré d'immunité, dans le paludisme des canaris à *P. cathemerium,* en utilisant des hématies parasitées tuées par le formol ou la chaleur. Les résultats les plus réguliers sont ceux obtenus avec l'emploi de facteurs adjuvants de l'immunité. Jacobs utilise comme adjuvant la toxine staphylococcique (*P. lophurae*) ; en réalisant une émulsion eau dans huile (huile de paraffine et agent émulsionnant type lanoline) de globules rouges parasités tués par le formol, et de bacilles tuberculeux tués et desséchés, de bons résultats sont obtenus par Thomson et al. (*P. lophurae, P. cathemerium*), Freund et al. (*P. knowlesi*), Coffin (*P. lophurae*).

Des vaccins préparés à partir de sporozoïtes procurent une immunité partielle dans le cas de *P. gallinaceum* (Mulligan et al., Russel et al.) contre les infections par sporozoïtes mais non contre les infections transmises par inoculation de sang [76].

7. *Immunité et formes exo-érythrocytaires.* La plupart des recherches expérimentales sur les effets antiparasitaires observés dans le paludisme ont été réalisées au moyen des formes sanguines de l'hématozoaire. Mais on commence à se demander si les facteurs agissant sur ces formes possèdent également une action sur les sporozoïtes ou sur les formes exo-érythrocytaires.

C'est ainsi que Taliaferro, au IV[e] Congrès International de Médecine Tropicale et du Paludisme, signalait que l'on commence à prendre en considération la possibilité de l'existence de différences antigéniques entre les différentes phases de l'hématozoaire. Il rappelle que M. F. Boyd et Kitchen (1936), Sinton (1940) croient que l'immunité acquise vis-à-vis de *P. vivax* et *P. ovale* chez l'Homme (que l'infection soit provoquée par inoculation de sang ou transmise par sporozoïtes) est dirigée surtout contre la phase érythrocytaire plutôt que contre les sporozoïtes ; que Russell, Mulligan et Mohan (1942) ont vu que des poulets, immunisés au moyen de sporozoïtes inactivés de *P. gallinaceum,* étaient partiellement immunisés vis-à-vis des sporozoïtes mais non contre l'infection transmise par inoculation de sang parasité ; que Huff et Coulston (1946) ont récemment établi que des formes pré-érythrocytaires apparemment normales, mais peu ou pas de formes sanguines de *P. gallinaceum,* se développent lorsque de grosses doses de sporozoïtes sont injectées dans le derme de poulets, immuns à la suite d'injection provoquée par inoculation de sang parasité ou de sporozoïtes. Pour expliquer de telles différences, on a suggéré qu'il y a des anticorps différents pour agir contre le sporozoïte et contre les formes érythrocytaires.

Toutefois il faut souligner, écrit ailleurs Taliaferro [76], que quelque puisse être l'importance des formes tissulaires dans la genèse de l'infection et dans son maintien durant la période de latence, l'immunité aux formes sanguines possède encore un grand rôle : les formes exo-érythrocytaires ne peuvent procurer une rechute si l'immunité contre les formes sanguines est suffisamment solide pour tuer les parasites aussitôt qu'ils entrent dans le courant sanguin.

Il faut donc distinguer, plus qu'on ne le fait habituellement, les phénomènes d'immunité dans le paludisme naturel où interviennent les formes exo-érythrocytaires, responsables d'une plus longue persistance de l'infection, et le paludisme d'inoculation, où seuls les trophozoïtes sont présents chez l'animal (tout au moins chez les Mammifères, car dans les paludismes aviaires d'inoculation de formes érythrocytaires peut aboutir à l'apparition de formes exo-érythrocytaires). Ce sont là des précisions qu'il faut apporter pour éviter des généralisations excessives.

CHAPITRE II

Discussions sur l'immunité dans le paludisme à *P. berghei*

L'exposé schématique que nous venons de présenter sur l'immunité dans les divers paludismes a montré les nombreux points qui se retrouvent dans la maladie du Rat à *P. berghei*. Il nous permettra de montrer ce que l'étude de cette infection apporte de neuf en paludologie, et surtout quelles possibilités de recherches elle offre en ce domaine.

Chez le Rat, la maladie palustre expérimentale se traduit par un accès aigu qui, lorsqu'il ne provoque pas la mort de l'animal, se termine par une « crise » qui conduit rapidement à la disparition de la parasitémie visible ; l'animal, chez lequel on peut par certaines méthodes montrer la persistance du microbe dans l'organisme pendant un certain temps, ne présente plus alors de rechutes spontanées et devient résistant aux surinfections. Ces phénomènes : disparition de la parasitémie au-dessous du niveau de visibilité microscopique, absence de rechutes spontanées, résistance aux surinfections et finalement disparition de l'infection latente, manifestent une adaptation victorieuse de l'organisme à l'hématozoaire, l'acquisition d'un état immunitaire. De plus, l'observation des stades du début de l'infection révèle l'intervention, avant toute immunité acquise, d'une résistance plus ou moins grande des animaux à la parasitose : ce qui met en évidence une immunité naturelle dont il faut aussi tenir compte.

Les schémas ci-joints rappelleront les phénomènes essentiels de l'immunité spécifique observés dans le paludisme du Rat et que nous allons discuter.

Il faut d'abord insister sur l'utilité de TECHNIQUES PRÉCISES dans cette étude de l'immunité. En plus des techniques qui nous ont servi pour réaliser l'inoculation ou suivre l'infection

LES GRANDS FAITS IMMUNOLOGIQUES

I. — Chez l'animal neuf inoculé :
le fléchissement de l'immunité naturelle : le « cercle vicieux » de l'infection qui augmente la réticulocytose sanguine et fait par suite baisser la résistance innée.

II. — Chez l'animal neuf splénectomisé puis inoculé :
évolution toujours mortelle.

III. — Chez l'animal guérissant spontanément de l'infection première :
guérison ;
absence de rechute malgré l'infection latente ;
résistance aux réinoculations ;
possibilités de rechutes grâce à des artifices expérimentaux ;
disparition de l'infection latente.

IV. — Chez l'animal immun subissant de nouvelles inoculations :
le renforcement de l'immunité.

V. — Chez l'animal immun splénectomisé :
la rechute ;
restauration de l'immunité, mais instable ;
parfois même infection chronique.

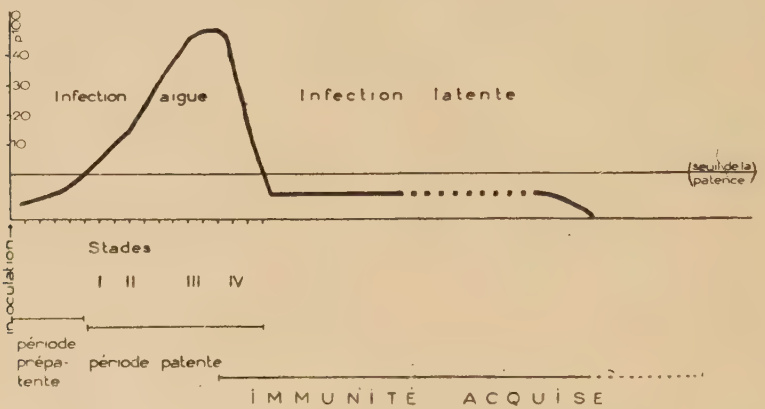


Fig. VIII. — Schéma de l'infection expérimentale du Rat blanc par *P. berghei*.

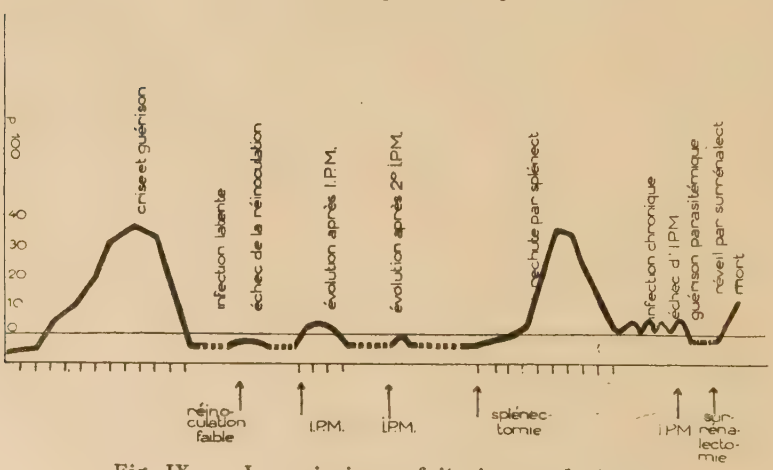


Fig. IX. — Les principaux faits immunologiques.

que nous avons décrites dans un autre mémoire [36] et résumées au début de cette thèse, nous avons été amenés à appliquer et à mettre au point des règles et des modalités expérimentales pour pouvoir apprécier avec précision l'immunité naturelle ou acquise.

Il en résulte que, dans ces investigations, *les injections d'hématozoaires en quantités faibles et non mesurées* avec précision, qui avaient été d'abord utilisées, on été très vite abandonnées au Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine d'Alger. Les inoculations faibles présentent plusieurs inconvénients :

— l'incertitude de la quantité d'hématozoaires introduits, qui peut varier de 1 à 100, rend difficilement comparables les résultats d'expériences que l'on répète ;

— les effets de l'inoculation, quand elle aboutit à une parasitémie manifeste, ne peuvent être appréciés qu'après plusieurs jours ; donc les phénomènes immunologiques se produisant pendant cette phase silencieuse de prépatence ne peuvent être décelés et la réactivité de l'organisme a eu le temps d'être modifiée justement par cette inoculation d'épreuve ;

— et si cette inoculation faible échoue, on ne peut savoir si l'immunité est alors forte ou faible.

Par contre, la technique des *injections massives*, que G. Fabiani et R. Vargues ont proposée, nous paraît devoir être employée systématiquement dans l'étude de l'immunité. La quantité importante d'hématies parasitées (300 millions pour un Rat adulte de 120 à 150 grammes) aboutit à une parasitémie presque immédiate dont on peut suivre l'évolution pendant les heures qui suivent, ce qui permet donc de juger aussi bien la réceptivité naturelle du Rat neuf que la résistance acquise de l'animal immun.

La réponse à l'épreuve peut être jugée rapidement — en 48 heures, bien souvent même en 24 heures — donc avant que cette inoculation ait pu réveiller ou faire apparaître une immunité acquise. Enfin les résultats peuvent être chiffrés, ce qui élimine les erreurs dues à une appréciation subjective. Nous avons pu ainsi observer plusieurs faits nouveaux qui auraient été sans cela méconnus (caractère stationnaire de l'infection débutante tant que la réceptivité de l'organisme ne s'est pas accrue ; diminution fréquente, chez l'animal en état d'infection latente, de la résistance naturelle masquée par l'immunité acquise ; ...).

A. — L'immunité naturelle.

Le Rat neuf, bien que très réceptif à l'hématozoaire, présente cependant un certain degré de résistance naturelle : des hématozoaires sont détruits, il n'y a qu'une partie des mérozoïtes libérés qui parasitent des globules rouges. D'autre part, l'infection n'a pas la même intensité chez tous les animaux.

Cette immunité naturelle peut être mise en évidence par le fait que l'augmentation de la parasitémie ne correspond pas au nombre de mérozoïtes produit par rosaces : et ceci est montré à l'évidence, le phénomène étant comme « grossi », par l'impaludation au moyen de grandes quantités d'hématozoaires, qui en 24 heures provoquent une parasitémie de 1 à 3 p. 100 : le chiffre se maintient à ce niveau ou même décroît légèrement pendant 3 à 4 jours.

Les épreuves de splénectomie pratiquées avant impaludation massive nous ont montré que la rate ne jouait aucun rôle dans l'immunité naturelle, puisque la splénectomie ne modifie le tableau parasitémique ni durant les premières heures ni durant les premiers jours. Ainsi les résultats obtenus avec *P. berghei* concordaient avec ceux trouvés dans d'autres paludismes.

L'affinité du *Plasmodium* pour les hématies jeunes à substance réticulo-filamenteuse explique en majeure partie la réceptivité plus ou moins grande des rats. Ce parasitisme électif mentionné par divers auteurs a été étudié par Baldi, qui pensait que l'on peut expliquer ainsi diverses particularités de l'infection, en particulier la gravité du paludisme du jeune Rat et de la Souris chez lesquels la réticulocytose est élevée, gravité que l'on retrouve signalée dans les constatations faites par H. Galliard et Lapierre.

Nos recherches systématiques sur la réticulocytose sanguine au cours de l'infection à *P. berghei* ont montré d'abord le parallélisme des deux courbes de réticulocytes et d'hématies parasitées lors de l'évolution de la maladie : c'est dans la mesure où la courbe de réticulocytose s'élève que la courbe de parasitémie s'élève aussi. Les variations expérimentalement provoquées du taux des hématies jeunes entraînent des variations parallèles de la gravité de la maladie, mesurée par le nombre absolu ou relatif des globules rouges parasités. Puisque les réticulocytes indiquent le degré de réceptivité naturelle, indépendamment de l'intervention de toute immunité acquise, il y a là possibilité de mesurer un élément fondamental du *terrain* sur

lequel se développe l'infection, et le paludisme du Rat apparaît comme une des très rares maladies infectieuses au cours desquelles on peut mesurer et faire varier le facteur qui joue un rôle prédominant dans la réceptivité de l'hôte au microbe parasite.

Nous avons ainsi l'explication d'une constatation paradoxale qu'il nous a été donné de faire grâce aux inoculations massives : l'allure stationnaire, pendant plusieurs jours, de la parasitémie chez le Rat infecté par de grandes quantités d'hématozoaires, alors qu'on s'attend à une infection très rapidement ascendante. Pour que l'infection sanguine puisse s'élever, il faut que la moelle osseuse, excitée par la destruction des hématies parasitées, ait eu le temps de réagir, produisant et libérant un nombre élevé de réticulocytes ; jusque là, la réticulocyte persiste à son taux normal de 1 à 2 p. 100, et la parasitémie se maintient à ces mêmes chiffres.

On constate ainsi la baisse de la résistance naturelle provoquée par l'infection qui, en véritable cercle vicieux, augmente la réceptivité (c'est-à-dire le nombre des réticulocytes) qui va favoriser l'apparition d'une parasitémie très élevée.

Nous avons pu ainsi constater que résistances naturelle et acquise peuvent varier indépendamment l'une de l'autre et que la réponse de l'organisme à une inoculation — ou réinoculation — est la somme de ces deux facteurs. Ces variations indépendantes de l'immunité naturelle et acquise, chez le Rat immun, n'apparaissent pas toujours tant qu'un artifice expérimental ne les révèle pas, par exemple une épreuve d'immunité pratiquée immédiatement après splénectomie ou même parfois la constatation d'une forte réticulocytose contrastant avec une faible parasitémie. Ce qui nous fournit l'explication de deux autres paradoxes révélant une réceptivité anormale malgré l'immunité acquise : (1) la rapidité d'ascension de la courbe parasitémique observée dans les rechutes du Rat immun splénectomisé, alors qu'une montée aussi rapide n'existe jamais dans l'accès de primo-infection, même chez l'animal privé de sa rate ; (2) l'évolution anormale d'une réinoculation forte pratiquée immédiatement après la splénectomie chez un Rat immun.

Ainsi la réticulocytose peut traduire l'intervention d'une immunité spécifique quand il y a de nombreux réticulocytes non parasités alors que la quantité de plasmodies présentes dans l'organisme aurait dû aboutir à un parasitisme de toutes les hématies granulo-filamenteuses.

Soulignons enfin l'intérêt pratique de cette notion pour

l'expérimentateur qui veut obtenir rapidement une infection très intense ou au contraire freiner l'ascension de la parasitémie.

Ce parasitisme électif des réticulocytes n'est pas l'apanage de tous les paludismes ; car si dans le paludisme à *P. vivax* on observe un pareil tropisme des hématozoaires — à tel point que Baldi [2] en provoquant artificiellement une élévation de la réticulocytose provoque une augmentation du taux de la parasitémie — on ne le retrouve pas dans les autres paludismes humains. Kitchen [51, 52, 53], a montré aussi l'affinité du *P. vivax* pour les réticulocytes, a vu que le *P. falciparum* est indifférent à l'âge de la cellule envahie et que *P. malariae* semble préférer les érythrocytes mûrs. Dans les paludismes simien et aviaire, il ne semble pas que ce tropisme pour le réticulocyte soit marqué ; bien plus, selon Rigdon et Mc Cain [62], le *P. lophurae* a une affinité particulière pour les globules rouges adultes. On saisit là une des dissemblances qui donne à chaque paludisme, sous des aspects généraux communs, sa physionomie propre.

B. — L'immunité acquise.

1. *Manifestations fondamentales de l'immunité.*

a) *Son apparition au cours de l'accès de primo-infection.*

— La primo-infection à *P. berghei* se termine rapidement, et nous avons pu constater une véritable « crise » parasitémique lorsque la parasitémie a atteint un haut degré, aspect que l'on a retrouvé souvent dans d'autres paludismes, par exemple avec *P. brasilianum*. Cette crise, qui a été mentionnée par A. Corradetti et F. Verolini, nous a permis de déceler quatre stades dans l'évolution de la primo-infection.

— Les formes de souffrance apparaissent également comme dans d'autres paludismes (« crisis forms ») et l'on constate aussi en fin d'infection une diminution des mérozoïtes par rosace.

b) *L'absence de rechute spontanée* chez le Rat est un fait sur lequel les observations des différents auteurs concordent. C'est déjà un signe que l'immunité acquise est plus forte chez le Rat que dans d'autres paludismes où les rechutes existent, voire sont parfois fréquentes.

c) *La résistance aux réinoculations*, caractère primordial de l'immunité dans tout paludisme, se révèle extrêmement forte chez le Rat. La technique d'inoculation intrapéritonéale massive

de G. Fabiani et R. Vargues (plus aisée et possédant la même valeur que la technique d'injection intracardiaque massive des mêmes auteurs), technique qui correspondait à l'injection intraveineuse de grandes quantités d'hématozoaires dans les autres paludismes, a parmis de montrer d'abord le haut degré de la résistance acquise qui ne se laisse pas réduire par des inoculations très importantes, puis de mettre en évidence le renforcement de l'immunité par injections répétées, sans qu'il y ait diminution de cette immunité, comme on le voit dans certains paludismes (*P. gallinaceum*, *P. lophurae*) lorsque la dose est trop forte ou les réinoculations trop rapprochées. Par l'étude de la durée de la parasitémie au cours de la réinoculation, on a pu mesurer aussi le léger fléchissement des résistances organiques qui peut se produire après plusieurs mois. Enfin il a été possible de constater l'existence d'une immunité croisée entre deux souches de *Plasmodium berghei*.

d) *La disparition spontanée de l'infection latente*, que nous discuterons plus loin, montre aussi l'intervention de l'immunité qui après quelques semaines aboutit à l'éradication du parasite.

e) Il est surprenant que, malgré la rapide acquisition d'une immunité forte et durable, nous ne soyons pas arrivé à vacciner des rats contre le paludisme, ni par simple injection de *Plasmodium* tués, comme R. Vargues l'a constaté dans des expériences encore inédites, ni même par la technique de Freund et Thomson avec divers adjuvants ; peut-être, il est vrai, cet échec est-il dû à la trop faible quantité d'antigène employé.

2. *Rôle de la rate.*

Sans rôle appréciable dans le mécanisme de l'immunité naturelle, la rate s'avère d'une grande importance dans l'acquisition et la conservation de l'immunité acquise chez le Rat, tout comme dans les autres paludismes. Les techniques d'étude que nous avons employées ont permis de préciser l'importance relative de cet organe à partir du moment où commence à apparaître l'immunité acquise jusqu'au moment où celle-ci est pleinement constituée. Par le fait même, elles nous ont montré la part de plus en plus importante que prennent les facteurs extra-spléniques dans le maintien de l'immunité, — une fois celle-ci constituée —, à mesure que les jours passent.

C'est ainsi que la rate apparaît indispensable à la constitution d'une immunité suffisamment forte pour conduire à la guérison clinique de la primo-infection. Il n'y a pas de guérison si l'ablation de la rate est faite avant l'impaludation

ou au cours de l'accès aigu. L'étude des courbes parasitémiques obtenues quand la splénectomie est pratiquée aux différents stades de l'infection nous a cependant permis de mettre en évidence l'apparition progressive, au cours de la primo-infection, de facteurs immunologiques extraspléniques (qui se sont constitués peut-être sous l'influence de la rate mais peut-être aussi indépendamment d'elle), dont l'importance va en croissant.

Quand l'organisme parasité a pu surmonter la crise de la primo-infection et les conséquences physio-pathologiques de cette infection sévère, et élaborer une immunité spécifique, le fait fondamental concernant le rôle défensif de la rate est le fléchissement marqué de l'immunité provoqué par la splénectomie. Ce réveil du paludisme a été constaté dans tous les cas d'infections plasmodiales susceptibles de passer au stade de latence. H. Galliard le rappelait dans une note à la Société de Biologie quand il rapportait ses observations de splénectomie chez le Rat infecté par *P. berghei*.

Mais sous une apparente unité des réponses, les résultats peuvent présenter quelques différences instructives selon les circonstances où est pratiquée cette intervention.

Une fois obtenue la guérison « clinique », les expériences de splénectomie pratiquées chez l'immun nous ont montré que les rechutes (1) d'abord presque constantes et très souvent mortelles pendant les trois semaines qui suivent la guérison de la primo-infection, (2) sont ensuite de moins en moins sévères, c'est-à-dire ne conduisent plus à la mort mais provoquent un réveil temporaire ou qui passera à la chronicité (3) et enfin ne se produisent plus si un mois environ s'est écoulé depuis la guérison de la primo-infection. Comme nous l'avons fait remarquer alors, ces résultats sont en accord avec les résultats de rechutes (ou d'absence de rechute) observés par les divers auteurs qui ont splénectomisé des rats à des délais variables après guérison de la primo-infection. Nous pensons que ces phénomènes post-splénectomiques indiquent que les facteurs immunitaires extra-spléniques (sans pouvoir préjuger s'ils sont humoraux ou dus à des phénomènes de suppléance réticulo-endothéliale) continuent à se développer au cours des mois qui suivent la guérison de la primo-infection.

Les splénectomies faites chez des animaux hyperimmuns ont mis en évidence un renforcement de l'immunité d'origine extra-splénique par les réinoculations, comme le montre l'allongement du temps nécessaire à l'apparition de la parasitémie après splénectomie. D'un autre côté, les expériences de surinfection d'ani-

maux immuns splénectomisés permettent de constater que la résistance aux surinfections est sans doute diminuée chez les animaux privés de leur rate, mais que la courbe de parasitémie est entièrement différente de celle que l'on obtient chez l'animal neuf splénectomisé. Ainsi est montré que, dans la résistance aux surinfections, la rate est largement impliquée et, en même temps, qu'à côté d'elle jouent d'autres facteurs immunologiques indépendants d'elle. Enfin, les expériences de surinfections chez l'immun splénectomisé depuis longtemps (qu'il ait ou non présenté un réveil, qu'il soit en état d'infection chronique ou qu'il ait guéri cliniquement de sa rechute) montrent la présence chez un tel animal d'un pouvoir de résistance certain aux surinfections, bien que nettement inférieur à celui observé lorsque la rate est présente.

Dans l'un et l'autre cas, l'ablation de la rate peut faire fléchir la résistance naturelle, en élevant le taux des réticulocytes sanguins. Il peut y avoir réveil d'une bartonellose latente, réveil très précoce qui par l'anémie qu'il entraîne provoque la libération d'un grand nombre d'érythrocytes jeunes. La splénectomie peut aussi retentir directement sur la moelle osseuse : excitation de l'érythropoièse signalée chez plusieurs Mammifères, et en particulier chez le Rat, mais qui ne nous paraît pas constante.

L'étude de la réticulocytose chez le splénectomisé montre le rôle de l'augmentation des réticulocytes sur la courbe de parasitémie : le fléchissement de l'immunité acquise provoqué par l'ablation de la rate est aggravé par le fléchissement de la résistance naturelle, mesuré par cette augmentation des cellules réceptives ; réciproquement, le rôle de la réticulocytose dans l'allure de la parasitémie confirme que le réticulocyte est un élément important du « terrain ». Cette étude montre aussi la persistance pendant plusieurs jours, après splénectomie, d'une immunité acquise importante chez certains animaux (le taux de parasitémie étant nettement inférieur à celui de la réticulocytose), puis le rétablissement d'une immunité d'origine extra-splénique lorsque après un clocher aigu la parasitémie redescend et se maintient au faible degré qui constitue l'infection chronique, cela malgré la persistance d'une réticulocytose importante.

Enfin, par ces splénectomies, était mis en évidence le caractère malgré tout irremplaçable de la rate. Comme il ressort de l'existence d'une infection chronique après splénectomie, les facteurs immunologiques extra-spléniques ont la plus grande

difficulté à eux seuls, non seulement à détruire complètement les hématozoaires, mais à les conserver en un état de latence tel que le microscope ne puisse les déceler.

La rate « un des organes essentiels de la prémunition », écrivait Ed. Benhamou [3] ; organe indispensable à l'établissement de l'immunité et utile à son maintien, pouvons-nous préciser.

C'est parce que le Rat est un animal vraiment de choix (la splénectomie est chez lui une opération très aisée et réalisable rapidement sur de nombreux animaux) qu'ont pu être faites ces expériences pas toujours aussi faciles à pratiquer en série dans les autres paludismes, expériences qui ont permis d'ouvrir certains aperçus nouveaux sur le rôle, privilégié et relatif à la fois, de la rate dans l'acquisition, le maintien et le renforcement de l'immunité spécifique.

3. *Autres facteurs susceptibles d'agir sur l'immunité.*

L'action de la surrénale et de la cortisone est un chapitre encore obscur. Les publications de G. Fabiani, M. A. Izzo et P. Grellet ont montré que les *surrénales* peuvent parfois jouer un rôle, insoupçonné jusque là, dans le maintien de la latence de l'infection après splénectomie, puisque leur ablation a pu provoquer une rechute là où la splénectomie à elle seule avait été insuffisante. La surrénalectomie peut également provoquer une reprise de la parasitémie chez un rat splénectomisé dont l'infection est devenue latente après rechute ou après réinoculation infectante.

La cortisone, sans action semble-t-il sur l'immunité de l'animal guéri de sa primo-infection et non splénectomisé, manifesterait une action — complexe et encore mal élucidée — lorsque l'animal immun est privé de sa rate. Il faut souligner le fait que cette substance hormonale n'a pas provoqué de rechute de l'infection latente, car chez le Singe la cortisone a des effets comparables à ceux de la splénectomie.

Le bleu trypan, l'adrénaline, l'altitude, l'hémothérapie, la gestation, l'allaitement, la saignée ne provoquent pas, ou très rarement, de rechute parasitaire chez le Rat. Nous voyons donc que divers facteurs connus comme pouvant provoquer une rechute du paludisme chez l'Homme ou le Singe (injection de cortisone) ou les Oiseaux (blocage du système réticulo-endothélial) n'agissent pas avec la même régularité ou n'agissent même pas du tout sur l'infection latente du Rat. Ce qui montre encore, tout comme l'échec de la cortisone, la grande « solidité » de l'immunité acquise.

4. Durée de l'immunité et durée de l'infection.

La durée de la persistance du *P. berghei* dans l'organisme semble assez brève, d'après nos recherches et celles des auteurs qui ont étudié ce *Plasmodium*, plus brève que la durée de la résistance aux surinfections.

Cette brièveté de survie du *P. berghei* n'est pas en contradiction avec ce que l'on observe dans les autres paludismes : nous avons signalé plus haut combien la durée moyenne de la vie d'un parasite chez son hôte varie suivant l'espèce plasmodiale. De plus, cette brièveté de survie s'explique si l'on considère le haut degré d'immunité acquis d'emblée par le Rat au cours de sa primo-infection et l'absence de formes exo-érythrocytaires qui, insensibles aux facteurs d'immunité acquise, permettent la survie du parasite.

D'autre part, comme le fait remarquer Edm. Sergent, il faut être très circonspect avant d'affirmer de façon certaine la disparition du parasite. Discutant à propos de *P. relictum* des critères pour juger de la disparition totale de l'hématozoaire, Edm. Sergent montre que le test le plus efficace — l'isodiagnostic par inoculation de 1/5 de la masse sanguine à un animal neuf — peut se montrer négatif plusieurs fois et malgré tout se positiver à nouveau. « Plusieurs résultats négatifs cons-« tatés successivement pour un même oiseau ont été souvent « démentis ultérieurement — jusqu'à quatre ans plus tard — par « le résultat positif d'une nouvelle épreuve ou bien par l'appa-« rition d'une rechute parasitaïre » [70].

La stérilisation thérapeutique de l'organisme (nivaquine) qui laisse persister une résistance aux surinfections (résultats trouvés aussi par Coggeshall et Maier chez *P. knowlesi*, avec d'autres anti-malariques) laisse à penser cependant que, — dans certains paludismes au moins, tel celui à *P. berghei*, — la résistance aux surinfections peut persister après disparition complète de l'hématozoaire. Nous n'avons cependant pas suffisamment précisé encore combien de temps persiste l'immunité après stérilisation thérapeutique du Rat. Et l'on peut simplement dire, à propos du *P. berghei*, ce que W. H. Taliaferro écrivait à propos du paludisme en général, à savoir que l'immunité acquise « dure généralement aussi longtemps que dure l'infection et « probablement un certain temps après » [76].

L'immunité de l'organisme vis-à-vis de *P. berghei* semble cependant assez particulière à ce paludisme, si l'on tient compte de ses rapports avec la durée de la parasitémie. En effet, dans

un paludisme comme celui dû à *P. lophurae* où la latence du parasite se produit très rapidement (et c'est le cas pour *P. berghei*), l'immunité diminue rapidement avec le temps et Taliaferro suggère que ceci est dû à la « latence précoce et à une cessation virtuelle d'antigène », tandis que l'augmentation progressive d'immunité que l'on constate avec *P. gallinaceum* serait due à « la constante absorption d'antigène provenant de la persistance d'un bas degré d'infection » [87]. Avec *P. berghei*, au contraire, l'immunité se maintient malgré la latence précoce et par conséquent la cessation de libération d'antigènes ou leur moindre libération.

5. *Mécanisme de l'immunité acquise.*

Nous avons retrouvé chez le Rat des modifications cellulaires et humorales mises en évidence dans d'autres paludismes, qui expliquent par quels mécanismes le Rat lutte contre les hématozoaires parasites.

a *Au point de vue cellulaire.* Le rôle important de la phagocytose des parasites dans l'immunité acquise est montrée, — sans parler de l'augmentation du volume de la rate et des images de phagocytose observées dans les différents organes, en particulier le foie et la rate —, par les phénomènes observés lorsque l'on supprime une partie importante du système réticulo-endothélial par splénectomie (absence de guérison chez l'animal splénectomisé avant ou en cours d'accès de primo-infection, rechutes provoquées par splénectomie).

b *Au point de vue humoral.* Cependant, la diminution progressive de l'importance de la rate dans les semaines qui suivent la fin de l'accès de primo-infection, ou bien lorsque l'animal est devenu hyperimmun par réinoculations répétées, peut être attribuée soit à une suppléance progressive de la rate par d'autres éléments du système réticulo-endothélial dans leur action macrophagique, soit à une augmentation de facteurs humoraux, soit aux deux à la fois.

Nous avons pu mettre en évidence l'existence de facteurs humoraux en réalisant d'abord une *séro-protection* partielle, puis en montrant au moyen de ce que nous appelons le « test péritonéal » que des opsonines existent dans le sérum d'hyperimmuns.

La valeur protectrice, partielle et temporaire, du sérum d'animal immun ou hyperimmun, telle que nous l'avons exposée dans un chapitre précédent, manifeste des caractères qui sont communs avec ceux que l'on trouve dans d'autres paludismes :

— nécessité d'employer de très fortes quantités de sérum (donc faible proportion de principes actifs dans le sérum ;

— l'effet protecteur est plus marqué lorsque l'animal est hyperimmun que lorsqu'il est simplement immun ; Coggeshall et Kumm remarquaient que par surinfection ils augmentaient le pouvoir protecteur de l'immun-sérum.

Au sujet de la nature des anticorps antimalariques, le test de séro-protection chez le Rat fournit aussi une indication qui constitue une preuve indirecte de l'existence d'opsonines spécifiques. On sait en effet que, dans le mécanisme de cette séro-protection, on attribue un rôle important à des iso-opsonines qui agiraient sur les globules rouges normaux aussi bien que sur les globules rouges parasités. Et dans les paludismes aviaires, où l'on ne voit pas d'affinité pour les globules rouges immatures, la diminution des globules rouges mûrs (que provoquent ces iso-opsonines) aiderait à la diminution de la parasitémie. C'est ainsi que Coffin écrit : « Une destruction mar-
« quée de globules rouges existe dans les paludismes aviaires
« et semble aider en réduisant la parasitémie. Ainsi, si des glo-
« bules rouges frais sont injectés, la parasitémie se maintient
« (Rigdon et Varnados, 1945 ; Becker et Marousek, 1949) et,
« réciproquement, si on administre des substances hémolytiques
« au cours de la parasitémie à des sujets humains (Lorant,
« 1946) ou à des Singes (Cruz, 1949), la parasitémie est
« écourtée » [12]. Or, chez le Rat, loin d'avoir une affinité pour le globule rouge mûr, le parasite a un tropisme pour les hématies immatures : si le sérum contenait des anticorps actifs principalement contre les globules rouges (même non parasités), l'anémie produite provoquerait (par l'appel de réticulocytes qu'elle engendrerait) un haut degré de parasitémie : ce qui n'est pas le cas, puisque nous réalisons expérimentalement avant impaludation une anémie (par ponction cardiaque) et une augmentation de la réticulocytose (par vitamine B 12) et pourtant la protection persiste. Il semble donc qu'à côté des iso-opsonines postulées dans les autres paludismes (et existant peut-être dans l'infection à *P. berghei*), le test de séro-protection montre que dans le sérum de Rat hyperimmun il y ait des anticorps dirigés spécialement contre le parasite ou contre le globule rouge parasité.

L'intérêt de ce test de séro-protection chez le Rat apparaît certain si l'on considère ce que disait W. H. Taliaferro au IV^e^ Congrès International de Médecine Tropicale et du Paludisme : « The protection test has been perfected for only a few

infections and in monkeys is too expensive and unwieldly » (le test de séro-protection n'a été réalisé que pour un petit nombre d'infections et chez les Singes il est trop dispendieux et peu maniable) [84].

Par le « *test péritonéal* » (c'est-à-dire par l'étude microscopique de la sérosité péritonéale après injection de quantités massives d'hématozoaires chez l'animal immun ou hyperimmun nous avons mis en évidence *in vivo* une action opsonisante du sérum. En même temps nous éliminions l'existence d'une lysine (qui aurait pu expliquer les formes de souffrance) puisque les hématozoaires injectés ne manifestent pas de changement dans leur vitalité, leur croissance, leur taux de reproduction (les rosaces ont un nombre de mérozoïtes normal). Ainsi se retrouve dans le paludisme du Rat ces opsonines, découvertes *in vitro* par Zuckermann (au moyen de macrophages poussant en cultures de tissus), qui semblent jouer un rôle si important dans l'immunité acquise. C'est par elles, probablement, qu'est provoquée cette augmentation intense de la phagocytose dans l'immunité acquise; ne trouve-t-on pas d'ailleurs — dans d'autres paludismes — que de meilleurs résultats de séro-protection sont obtenus lorsque l'on active préalablement le système lympho-macrophagique (Mulligan et coll.) ? Et l'on comprend que, dès avant la découverte des opsonines, plusieurs auteurs aient émis l'hypothèse que la grande augmentation de la phagocytose, lors de l'immunité acquise, est due à la présence d'opsonines [84].

L'existence d'une protection d'origine maternelle chez le jeune Rat né de femelle impaludée et nourri par elle est encore une confirmation du rôle des anticorps dans l'immunité.

A côté de ces anticorps spécifiques, jouent aussi probablement des facteurs non immunologiques. C'est ainsi qu'avec *P. lophurae*, Rigdon et Mc Cain pensent que le déclin parasitaire est dû non seulement à des facteurs immunitaires mais aussi à des modifications physio-pathologiques telles que la diminution des hématies mûres, qui sont parasitées électivement par cet hématozoaire, et à une augmentation de CO^2 plasmatique. De même, dans l'infection à *P. berghei*, les variations de la réticulocytose sanguine interviennent aussi pour aggraver ou réduire la parasitémie. Mais comme l'écrit W. H. Taliaferro : « Il faut garder à l'esprit que les hauts degrés d'immunité à la surinfection persistent durant de longues périodes de latence, alors que plusieurs — sinon la totalité — de ces conditions non immunologiques sont retournées à la normale » [84].

C. — Intérêt du paludisme du Rat pour les recherches immunologiques.

Les discussions précédentes montrent l'*intérêt* que présente, pour l'immunologiste, le paludisme du Rat. Grâce à lui, il est possible d'étudier le paludisme d'un Mammifère chez lequel l'expérimentation est facile.

Certes, il est des *limites* aux renseignements que ces recherches peuvent fournir. Elles sont dues à l'intrication des cycles d'hématozoaires, ce qui entraîne l'absence d'accès disciplinés, et au fait qu'il s'agit d'un paludisme d'inoculation dans lequel les formes exo-érythrocytaires n'interviennent pas. Cette dernière difficulté pourra être surmontée puisque l'on vient de réaliser la transmission du *Plasmodium* au Rat par l'intermédiaire d'anophèles.

Ceci posé, les *particularités* de l'immunité qui s'installe rapidement après une infection aiguë sévère méritent d'être retenues : cette immunité est mesurable avec précision, elle est durable et forte puisque seule la splénectomie la fait fléchir ; enfin, dans le résultat global qu'elle représente, il est possible de distinguer, et de faire varier séparément, la réceptivité naturelle et la résistance acquise. Du point de vue immunologique, le paludisme du Rat occupe une position intermédiaire entre, d'une part, celui de Rongeurs (mérions adultes, Cotton rat) où le *Plasmodium* se montre très peu virulent, ne donnant qu'une parasitémie très faible et brève [71, 25, 60, 61], du Lapin, où l'immunité naturelle est très forte et presque insurmontable [24] et, d'autre part, celui de la Souris qui n'arrive pas à maîtriser l'infection.

Les caractères communs de toutes les infections plasmodiales s'observent dans le paludisme du Rat, mais avec des modalités particulières, car s'il intervient toujours des phénomènes comparables, leur mise en œuvre, leur intensité, leurs caractères varient selon l'espèce plasmodiale et même selon l'hôte parasité. Et nous faisons nôtres les conclusions très sages de A. Corradetti : « Il est impossible d'étendre par analogie à d'autres plasmo-« dies les constatations faites chez une d'entre elles » [16].

Mais au delà des différences spécifiques, nous retrouvons, dans ce paludisme des Rongeurs, les processus immunologiques communs à toutes les infections microbiennes, bactériennes et parasitaires ; et c'est ce qui nous semble être le grand intérêt de ces recherches.

CONCLUSIONS

La présente étude a été poursuivie sur 700 Rats blancs. Chez ceux dont nous avons laissé évoluer l'infection, 265 ont guéri de leur accès aigu d'invasion et ont permis l'étude des caractères de l'immunité acquise. Dans ces recherches, l'emploi de techniques précises, — en plus de celles qui nous ont servi pour réaliser l'infection et en suivre l'évolution —, nous a permis de constater plusieurs faits non encore décrits et d'en tirer des conclusions sur les caractères et le mécanisme de l'immunité.

1. *Techniques neuves ou mises au point.*

— Appréciation de la réticulocytose sanguine, pour mesurer l'immunité naturelle et juger de la plus ou moins grande réceptivité de l'organisme, et variations provoquées du taux des réticulocytes.

— Emploi d'injections massives intrapéritonéales (et parfois intracardiaques) d'hématies parasitées, selon la technique de G. Fabiani et R. Vargues. Ces épreuves permettent d'étudier la réceptivité naturelle aussi bien que la résistance acquise. Elles présentent l'avantage de donner un résultat rapide (qui se juge en 48 heures, donc avant qu'une immunité acquise ait pu s'établir ou se réveiller), et qui peut être chiffré (échappant ainsi aux erreurs d'une appréciation subjective).

— Epreuve péritonéale : véritable cytodiagnostic, qui étudie la réaction cellulaire et la phagocytose.

— Test de séro-protection, pour juger du pouvoir protecteur d'un sérum.

2. *Les faits nouveaux.*

— Mise en évidence chez le Rat d'un certain degré d'immunité naturelle, qui est inversement proportionnel au taux des réticulocytes sanguins. Diminution de la résistance naturelle provoquée par l'infection aiguë, et même dans certaines circonstances par l'infection latente.

— La guérison de la primo-infection ne peut survenir chez l'animal splénectomisé.

— L'immunité acquise est durable et forte ; elle présente des degrés. Elle peut être renforcée par des inoculations répétées. Elle ne fléchit au point de permettre une rechute que par la splénectomie et, dans certains cas, par la surrénalectomie. Existence d'une immunité transmise de la mère à l'enfant (par le placenta ou par le lait).

— Les résultats de la splénectomie sont différents selon le degré de l'immunité et l'ancienneté de l'infection latente.

— Démonstration de l'existence d'un pouvoir protecteur dans le sérum de rat immun ou hyperimmun.

— Démonstration *in vivo* de la présence d'opsonines dans le sérum de l'animal hyperimmun.

3. *Les conclusions nouvelles.*

— Importance de la réticulocytose comme facteur de réceptivité de l'organisme du Rat à l'infection ; intérêt de ce facteur provenant de ce qu'il peut être mesuré, de ce qu'on peut le faire artificiellement varier, et de ce qu'il reflète la réceptivité de l'animal non protégé par les facteurs d'immunité acquise. Le paludisme du Rat apparaît comme une des très rares maladies infectieuses au cours desquelles on peut mesurer et faire varier le facteur qui joue un rôle prédominant dans la réceptivité de l'hôte au microbe parasite.

— L'immunité acquise apparaît élevée mais présente des degrés. Dans la résistance plus ou moins grande aux réinoculations, il est possible de distinguer ce qui revient à la résistance naturelle et à l'immunité acquise.

— Persistance probable de l'immunité après disparition des parasites.

— Rôle de la rate : indispensable pour l'acquisition de l'immunité, cet organe voit progressivement diminuer son rôle, par suite de l'augmentation des facteurs extraspléniques de résistance à l'infection. Mais l'immunité reste sans elle plus fragile, comme le montre le tableau parasitémique de l'infection chronique que l'on peut observer alors.

— Action combinée, dans le mécanisme de l'immunité spécifique, de facteurs cellulaires (phagocytose) et humoraux (opsonines).

BIBLIOGRAPHIE

1. Baldi (A.). — Sul quadro anemico nell'infezione da *P. berghei* (Vincke e Lips). *Riv. di Malar.*, 1950, **29**, 349-356.
2. Baldi (A.). — Sul reticolotropismo del *P. vivax*. *Riv. di Malar.*, 1949, **28**, 197-220.
3. Benhamou (Ed.). — *L'exploration fonctionnelle de la rate*, Masson, Paris 1933.
4. Black (R. H.). — Parasitic recrudescences in trophozoite-induced *Plasmodium berghei* infections in the albino rat. *Ann. Trop. Med. and Parasit.*, 1951, **45**, 199-206.
5. Bordet (J.). — *Traité de l'Immunité dans les Maladies Infectieuses*, 2e Ed., Masson, Paris 1939.
6. Boyd (M. F.). — *Malariology*. Saunders C°, Philadelphia, 1949.
7. Boyd (M. F.) et Kitchen (S. F.). — On attempts to hyperimmunize convalescents from vivax malaria. *Am. J. Trop. Med.*, 1943, **23**, 209-226.
8. Brumpt (E.). — *Précis de parasitologie*, Masson C°, Paris, 6e édition, 1949.
9. Cannon (P. R.) et Taliaferro (W. H.). — Acquired Immunity in Avian Malaria. III. Cellular Reactions in Infection and Superinfection. *J. Prev. Med.*, 1931, **5**, 37.
10. Ciuca (M.), Ballif (L.) et Chelarescu-Viéru (M.). — Immunity in Malaria. *Tr. Roy. Soc. Trop. Med. et Hyg.*, 1934, **27**, 619.
11. Coffin (G. S.). — Active immunization of birds against malaria. *J. Infect. Dis.*, 1951, **89**, 1-8.
12. Coffin (G. S.). — Passive immunization of birds against malaria. *J. Infec. Dis.*, 1951, **89**, 8-15.
13. Coggeshall (L. T.) et Kumm (H.). — Demonstration of passive immunity in experimental monkey malaria. *J. Exp. Med.*, 1937, **66**, 177.
14. Coggeshall (L. T.) et Eaton (M. D.). — The quantitative relationship between immune serum and infective dose of parasites as demonstrated by the protection test in monkey malaria. *J. Exp. Med.*, 1938, **68**, 29.
15. Coggeshall (L. T.). — Humoral Immunity in Malaria. *Symposium on Human Malaria*, Washington, 1951.
16. Corradetti (A.). — Ricerche comparative sulla fagocitosi nelle varie infezioni da emosporidi. *Rendic. Ist. Sup. Sanitá*, 1946, **9**, 572-3.
17. Corradetti (A.). — Studi sulla patologia e immunologia comparate nelle infezioni da emosporidi. *Riv. di Paras.*, 1949, **10**, 129-140.

18. Corradetti (A.). — Particolari fenomeni immunitari nell'infezione da *P. berghei*. *Riv. di Paras.*, 1950, **11**, 201.

19. Corradetti (A.) et Verolini (F.). — Studies on relapses in blood-induced infections from *P. malariae* and *P. cynomolgi*. *J. Nation. Mal. Soc.*, 1950, **9**, 322-331.

20. Corradetti (A.) et Verolini (F.). — Relazioni tra *P. berghei* e cellule della seria rossa durante l'attaco primario nel rato albino. *Riv. di Paras.*, 1951, **12**, 69.

21. Coudert (J.) et Chastel (C.). — *Plasmodium berghei*. Un paludisme des Rongeurs intéressant pour l'étude expérimentale. *J. Méd. de Lyon*, 1952, 557-564.

22. Covell (Sir Gordon) et Nicol (W. D.). — Clinical, chemotherapeutic and immunological studies on induced malaria. *British Med. Bull.*, 1951, **8**, 51-55.

23. Culbertson (J. T.). — Immunological mechanisms in parasitic infections. in Most's *Parasitic infections in man*, Columbia Univ. Press, New-York, 1951, 19-36.

24. Deschiens (R.) et Lamy (L.). — Infection expérimentale du lapin par *Plasmodium berghei*. Vincke et Lips. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1951, **44**, 405.

25. Durand (P.) et Mathis (M.). — Sensibilité de trois rongeurs sauvages tunisiens au *P. berghei*. *LXX^e Congrès de l'Ass. Fr. Avanc. des Sciences*, Tunis, mai 1951.

26. Eaton (M. D). — Agglutination of *P. knowlesi* by Immune Serum. *J. Exp. Med.*, 1938, **67**, 857-860.

27. Fabiani (G.), Vargues (R.), Grellet (P.) et Clausse (Mlle J.). — Influence de la splénectomie sur des Rats blancs spontanément guéris d'une infection expérimentale à *P. berghei*. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1131.

28. Fabiani (G.), Vargues (R.), Fulchiron (G.) et Grellet (P.). — Etude des diverses voies d'inoculation expérimentale de *P. berghei*. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1156.

29. Fabiani (G.), Vargues (R.), Fulchiron (G.), Grellet (P.) et Verain (Mme A.). — Facteurs et signification de la période prépatente dans le paludisme expérimental à *P. berghei*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1951, **44**, 580-591.

30. Fabiani (G.), Izzo (Mlle M. A.) et Grellet (P.). — Réveil par la surrénalectomie d'infections sanguines latentes (à hématozoaires ou à bartonelles), chez le Rat blanc. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1301.

31. Fabiani (G.) et Vargues (R.). — Comportement des hématozoaires de réinoculation dans le sang du Rat guéri d'infection à *P. berghei*. *C. R. Acad. des Sciences*, 1951, **233**, 502.

32. Fabiani (G.) et Vargues (R.). — Inoculation intrapéritonéale massive de *P. berghei* chez le Rat blanc. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1523.

33. Fabiani (G.) et Fulchiron (G.). — Démonstration et analyse de l'immunité croisée entre deux souches de *P. berghei*. *Soc. Biol. d'Alger*, décembre 1951.

34. Fabiani (G.) et Izzo (Mlle M. A.). — Influence de la surrénalectomie sur le paludisme du Rat blanc infecté expérimentalement par *P. berghei*. *Soc. Biol. d'Alger*, séance de mars 1952.

35. Fabiani (G.), Vargues (R.), Grellet (P.), Fulchiron (G.) et Verain (Mme A.). — Le paludisme expérimental du Rat blanc à *P. berghei*. *Bull. Soc. de Path. exot.*, 1952, **45**, 524.

36. Fabiani (G.), Grellet (P.), Vargues (R.), Fulchiron (G.) et Verain (Mme A.). — La parasitémie au cours de l'infection expérimentale du Rat blanc par *P. berghei*. Etude quantitative et qualitative. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, **82**, 721-737.

37. Fabiani (G.), Clausse (Mlle J.) et Fulchiron (G.). — Rapports entre la réticulocytose sanguine et l'infection du Rat blanc à *P. berghei*, *Soc. Biol. d'Alger*, séance de mai 1952.

38. Fabiani (G.), Fulchiron (G.) et Clausse (J.). — Evolution du paludisme expérimental du Rat après inoculation d'une quantité importante d'hématozoaires. Intérêt des variations de la réticulocytose sanguine. *Ibid.*

39. Fabiani (G.), Clausse (J.) et Fulchiron (G.). — Influence de la réticulocytose sanguine sur l'évolution du paludisme chez les Rats immunisés et splénectomisés. *Ibid.*

40. Fabiani (G.), Clausse (J.) et Fulchiron (G.). — Intérêt de la réticulocytose sanguine dans le paludisme expérimental du Rat blanc à *P. berghei*. *C. R. Acad des Sciences*, 1952, **235**, 274-276.

41. Fabiani (G.) et Fulchiron (G.). — Démontration *in vivo* de l'existence d'un pouvoir protecteur dans le sérum de Rats guéris de paludisme expérimental. *Soc. de Biol. d'Alger*, séance de juillet 1952.

42. Fabiani (G.) et Fulchiron (G.). — Comportement des hématozoaires de réinoculation dans la cavité péritonéale de Rats guéris d'infection à *P. berghei*. Mise en évidence de la phagocytose des parasites. *Soc. Biol. d'Alger*, séance de juillet 1952.

43. Freund (J.), Thomson (K. J.), Sommer (H. E.), Walter (A. W.) et Pisani (T. M.). — Immunization of monkeys against malaria by means of killed parasites with adjuvants. *Am. j. Trop. Med.*, 1948, **28**, 1-22.

44. Galliard (H.). — A propos du *Plasmodium berghei*, Vincke et Lips. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1949, **42**, 431.

45. Galliard (H.) et Lapierre (J.). — Effets de la splénectomie sur l'évolution de l'infection à *P. berghei* chez le Rat blanc. *C. R. Soc. Biol.*, 1950, **144**, 402.

46. Galliard (H.) et Lapierre (J.). — Infection à *P. berghei* chez le Rat blanc. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1951, **44**, 185.

47. Gillman (J.), Gillman (T.) et Gilbert (C.). — Production expérimentale de stimulation diffuse des tissus conjonctifs chez le Rat ; signification des constatations faites, dans l'interprétation des réticuloses de l'homme. *Sem. Hôp. Paris*, 1951, 1046.

48. Gingrich (W. D.). — The role of phagocytosis in natural and acquired immunity in avian malaria. *J. Inf. Dis.*, 1941, **68**, 37-45.

49. Grellet (P.). — Le paludisme expérimental du Rat blanc par *P. berghei. Thèse Médecine*, Alger, 1951.

50. Huguenin (A.). — Le paludisme d'inoculation. *Thèse Médecine*, Alger, 1934.

51. Kitchen (S. F.). — The infection of reticulocytes by *P. vivax*. *Am. J. Trop. Med.*, 1938, **18**, 347.

52. Kitchen (S. F.). — Infection of mature and immature erythrocytes by *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium malariae*. *Am. J. Trop. Med.*, 1939, **19**, 47.

53. Kitchen (S. F.). — The differential infection of mature and immature erythrocytes by Plasmodia of Human malaria. *South. M. J.*, 1939, ***32***, 679.

54. Levaditi (C.) et Vaisman (A.). — Histo-pathologie de l'infection provoquée chez la souris par le *Plasmodium berghei*. Le rat réservoir de virus. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1950, **43**, 693-697.

55. Maier (J.) et Coggeshall (L. T.). — The duration of immunity to *P. knowlesi* malaria in Rhesus monkey. *J. Exp. Med.*, 1944, **79**, 401.

56. Mandoul (R.) et Pestre (A.). — Conception actuelle de la pathologie générale des paludismes humains. *Algérie Médicale*, 1952, 253-276.

57. Mollaret (P.). — L'injection de sang comme procédé de déclanchement des accès dans les échecs ou les arrêts du paludisme thérapeutique. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **113**, 299.

58. Raffaële (G.) et Baldi (A.). — Sulla morfologia et sulla transmissione di *P. berghei*. *Riv. di Mala.*, 1950, **29**, 341.

59. Ramakrishma (S. P.) et Prakash (S.). — *Ind. J. Malar.*, 1950, **4**, 361.

60. Rhodain (J.). — Comportement du Cotton rat vis-à-vis du *P. berghei* Vincke et Lips. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, 1949, **29**, 484.

61. Rhodain (J.). — Le comportement du Cotton rat vis-à-vis du *P. berghei* (Note complémentaire). *Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, 1951, **31**, 289-296.

62. Rigdon (R. H.) et Mc Cain. — Some factors that influence the degree of parasitemia in Ducks infected with *P. lophurae*. *Am. J. Trop. Med.*, 1947, **27**, 673-682.

63. Sabin (A. B.) et Feldmann (H. A.). — Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (Toxoplasma). *Science*, 1948, **108**, 660-663.

64. Schmidt (L. H.) et Squires (W. L.). — The influence of cortisone on primate malaria. *J. exp. Med.*, 1951, **94**, 501-520.

65. Sergent (Edm. et Et.). — Essai de vaccination contre le paludisme des oiseaux dû à *Plasmodium relictum*. *C. R. Acad. Sciences*, 1921, **172**, 296-298.

66. Sergent (Edm.), Parrot (L.) et Donatien (A.). — Une question de terminologie : Immuniser ou Prémunir. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1924, **17**, 37-38.

67. Sergent (Edm. et Et.) et Catanei (A.). — Un type de maladie à prémunition : le paludisme des passereaux à *Plasmodium relictum*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1934, **53**, 101-119.

68. Sergent (Edm.) et Parrot (L.). — Immunité et prémunition. *Ann. Inst. Pasteur*, 1935, **55**, 385-401.

69. Sergent (Edm.). — La prémunition dans le paludisme. *Rev. Col. Méd. et Chir.*, 1935, **67**, 2 ; **68**, 46.

70. Sergent (Edm. et Et.). — Recherches expérimentales sur l'infection latente et la prémunition dans le paludisme. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 1950, **28**, 1-70.

71. Sergent (Edm.) et Poncet (Mme A.). — Virulence du *Plasmodium berghei* pour le Mérion. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 1950, **28**, 323-334.

72. Sergent (Edm.). — Définition de l'Immunité et de la Prémunition. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 1950, **28**, 429.

73. Sherwood Jones (E.), Maegraith (B. G.) et Sculthorpe (H.). — Pathological processes in disease : III. The oxygen uptake of blood from albino Rats infected with *P. berghei*. *Ann. Trop. Med. a. Parasit.*, 1951, **45**, 244.

74. Sinton (J. A.). — Studies of infections with *Plasmodium ovale* V. The effects of multiple inoculations upon the degree and nature of the immunity developed. *Transact. of the Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 1939-1940, **33**, 585-595.

75. Taliaferro (W. H.) et Cannon (P. R.). — The cellular reactions during primary infections and superinfections of *Plasmodium brasilianum* in Panamanian monkeys. *J. Inf. Dis.*, 1936, **59**, 72-125.

76. Taliaferro (W. H.). — Immunity to the malaria infections. In Boyd's *Malarialogy*.

77. Taliaferro (W. H. et L. G.). — Active and passive immunity in Chickens against *P. lophurae*. *J. Inf. Dis.*, 1940, **66**, 153.

78. Taliaferro. (W. H. et L. G.). — The effect of immunity on the asexual reproduction of *Plasmodium brasilianum*. *J. Inf. Dis.*, 1944, **75**, 1-32.

79. Taliaferro (W. H.) et Bloom (W.). — Inflammatory reactions in the skin of normal and immune canaries and monkeys after the local injection of malarial blood. *J. Inf. Dis.*, 1945, **77**, 109-138.

80. Taliaferro (W. H. et L. G.). — Immunological relationships of *P. gallinaceum* and *P. lophurae*. *J. Inf. Dis.*, 1945, **77**, 224-248.

81. Taliaferro (W. H. et L. G.). — Asexual reproduction of *Plasmodium cynomolgi* in rhesus monkeys. *J. Inf. Dis.*, 1947, **80**, 78-104.

82. Taliaferro (W. H.). — The cellular basis of immunity. *Ann. Rev. Microb.*, 1949, 159-194.

83. Taliaferro (W. H.). — The inhibition of reproductions of parasites by immune factors. *Bacter. Rev.*, 1948, **12**, 1-17.

84. Taliaferro (W. H.) . — Acquired Immunity in malaria. *Proceed. of the Fourth Intern. Congr. Trop. Med. a. Malar.*, 1948, **1**, 776-782.

85. Taliaferro (W. H.), Kelsey (F. E.), Taliaferro (L. G.). — The role of the spleen and the lymphoid-macrophage system in the quinine treatment of gallinaceum malaria. *J. Inf. Dis.*, 1948, **83**, 164-199 ; 1949, **84**, 187-220.

86. Taliaferro (W. H. et L. G.). — Asexual reproduction of *Plasmodium knowlesi* in rhesus monkeys. *J. Inf. Dis.*, 1949, **85**, 107-125.

87. Taliaferro (W. H. et L. G.). — Reproduction-inhibiting and parasiticidal effects on *Plasmodium gallinaceum* and *Plasmodium lophurae* during initial infection and homologous superinfection in chickens. *J. Inf. Dis.*, 1950, **86**, 275-294.

88. Taliaferro (W. H. et L. G.). — Reduction in immunity in chicken malaria following Nitrogen mustard. *J. Inf. Dis.*, 1948, **82**, 5-30.

89. Terzian (L. A.). — Effect of splenectomy on avian malarial infection. *J. Inf. Dis.*, 1946, **79**, 216-220.

90. Thomson (K. J.), Freund (J.), Sommer (H. E.) et Walter (A. W.). — Immunization of ducks against malaria by means of killed parasites with or without adjuvants. *Am. J. Trop. Med.*, 1947, **27**, 79-105.

91. Trager (W.). — The effect of intraperitoneal injections of carbon ink on the course of *Plasmodium lophurae* infections in chickens. *Am. J. Hyg.*, 1941, **34**, 141.

92. Vargues (R.). — L'alexinémie au cours des maladies infectieuses humaines. *Thèse Médecine*, Alger, 1947.

93. Vargues (R.). — Etude sérologique de l'infection expérimentale du Rat blanc par *P. berghei :* disparition de l'alexine, présence d'anticorps fixant le complément. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1134.

94. Vargues (R.), Fabiani (G.) et Fulchiron (G.). — Etude sérologique de l'infection expérimentale du Rat blanc par *P. berghei.* Variations quantitatives de la sensibilisatrice et de l'alexine au cours de la maladie. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1298-1300.

95. Vargues (R.) et Fabiani (G.). — L'inoculation intracardiaque de *P. berghei.* Technique et intérêt de la méthode. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1519.

96. Vargues (R.) et Fabiani (G.). — La réinoculation intracardiaque de *P. berghei* chez les Rats guéris d'une infection première. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 1521.

97. Vaucel (M.). — *Médecine Tropicale*, Flammarion, Paris 1952, tome I, 655-806.

98. Vincke (I. H.) et Lips (M.). — Un nouveau *Plasmodium* d'un rongeur sauvage du Congo : le *Plasmodium berghei*. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, 1948, **28**, 97.

99. Vincke (I. H.) et Van den Bulcke (M. A.). — Réaction du *Rattus rattus* vis-à-vis du *P. berghei*. *Ibid.*, 1949, **29**, 537.

100. Vincke (I. H.) et Van den Bulcke (M. A.). — Réactions du *Thamnomys surdaster* vis-à-vis du *P. berghei*. *Ibid.*, 1949, **29**, 545.

101. Zuckermann (A.). — *In vitro* opsonic test with *P. gallinaceum* and *P. lophurae*. *J. Inf. Dis.*, 1945, **77**, 28.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 11

PREMIÈRE PARTIE

Chapitre I. — Vue d'ensemble sur l'attaque de première infection du Rat blanc par *P. berghei* 13

Chapitre II. — Historique des recherches sur l'immunité dans le paludisme du Rat 17

Chapitre III. — Techniques d'étude du paludisme expérimental du Rat 21

DEUXIÈME PARTIE

Chapitre I. — Les faits fondamentaux de l'immunité chez le Rat blanc. La guérison. L'absence de rechutes spontanées. La résistance aux réinoculations. La disparition spontanée de l'infection latente 27

Chapitre II. — Les facteurs de l'immunité 41

1. Immunité naturelle 41
   a) Mise en évidence de l'immunité naturelle 41
   b) Les facteurs de l'immunité naturelle (recherche du rôle du Système Réticulo-Endothélial : la splénectomie ; le rôle des réticulocytes 45

2. Les facteurs agissant sur l'immunité acquise 51
   a) Rôle de la rate 51
   — Dans la guérison de la primo-infection 51
   — Dans la conservation de l'immunité acquise (splénectomie chez les animaux immuns et hyperimmuns ; réinoculation chez l'animal, immun ou hyperimmun, splénectomisé) 54
   — Commentaires 73
   b) Rôle des surrénales (surrénalectomie ; cortisone) 78
   c) Autres facteurs 82

Chapitre III. — Caractères généraux de l'immunité : durée, immunité croisée, immunité congénitale et protection passive par le lait, immunité post-thérapeutique, essai de vaccination, nature de l'immunité 85

Chapitre IV. — Mécanisme de l'immunité 101

1. Facteurs humoraux. Pouvoir protecteur du sérum 101
2. La phagocytose 118

Troisième Partie

Commentaires et Discussions

Chapitre I. — Les caractères généraux de l'immunité dans les divers paludismes 125

Chapitre II. — Discussions sur l'immunité dans le paludisme à *P. berghei* 135

Conclusions 151

Bibliographie 153

Vu : *Le Président de Thèse,*

G. FABIANI.

Vu : *Le Doyen,*

SARROUY.

Vu et permis d'imprimer :

Alger, le 12 septembre 1952,

Le Recteur,

GAU.